



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria

**Aislamiento e identificación bacteriológica y  
caracterización de lesiones histopatológicas presentes  
en el tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon  
erythrostigma*) procedentes de la cuenca amazónica  
peruana**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Adhemir Ayrton VALERA ANDRADE

**ASESOR**

Nieves Nancy SANDOVAL CHAUPE

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Valera A. Aislamiento e identificación bacteriológica y caracterización de lesiones histopatológicas presentes en el tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedentes de la cuenca amazónica peruana [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria; 2016.

---



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el auditorio principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **jueves 09 de junio de 2016**, a las **11:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **075-EAPMV/FMV-2016**, integrado por los siguientes profesores:

<b>LUIS TABACCHI NAVARRETE</b>	Presidente del Jurado
<b>NIEVES SANDOVAL CHAUPE</b>	Asesora de la Tesis
<b>SIEVER MORALES CAUTI</b>	Miembro del Jurado
<b>MIRYAM QUEVEDO URDAY</b>	Miembro del Jurado

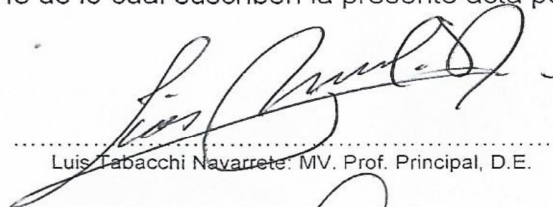
Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **VALERA ANDRADE, ADHEMIR AYRTON**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

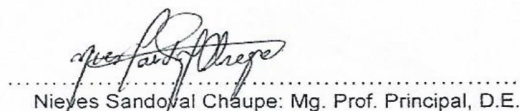
**"AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN BACTERIOLÓGICA Y CARACTERIZACIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS PRESENTES EN EL TETRA BLEEDING HEART (*Hyphessobrycon erythrostigma*) PROCEDENTES DE LA CUENCA AMAZÓNICA PERUANA"**

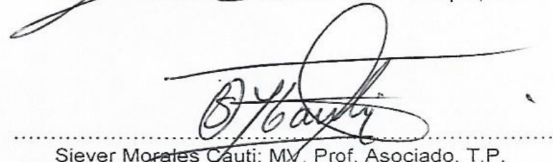
Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISIETE ( 17 )**.

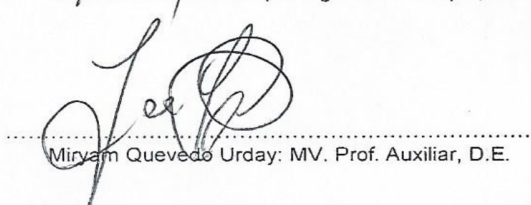
Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:15 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

  
Luis Tabacchi Navarrete: MV. Prof. Principal, D.E.

  
Nieves Sandoval Chaupe: Mg. Prof. Principal, D.E.

  
Siever Morales Cauti: MV. Prof. Asociado, T.P.

  
Miryam Quevedo Urday: MV. Prof. Auxiliar, D.E.

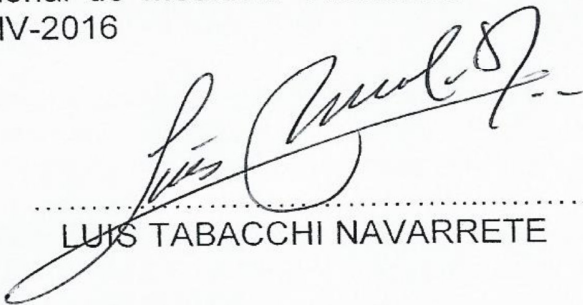





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
*Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA*  
**Facultad de Medicina Veterinaria**  
ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

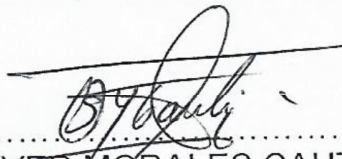
Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 075-EAPMV/FMV-2016

PRESIDENTE :

  
LUIS TABACCHI NAVARRETE

MIEMBROS :

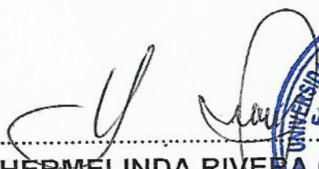
  
NIEVES SANDOVAL CHAUPE  
Asesora de la Tesis

  
SIEVER MORALES CAUTI

  
MIRYAM QUEVEDO URDAY

San Borja, 09 de junio de 2016

V° B°

  
MV. Mg. HERMELINDA RIVERA GERONIMO  
Directora de la Escuela Académico Profesional de  
Medicina Veterinaria



## **DEDICATORIA**

A mis padres Julio Cesar y Melva quienes han sabido guiarme de la manera correcta brindándome todo el cariño, amor y paciencia.

A mis hermanos Anais y Edson que siempre me han acompañado y son los responsables en motivarme y ayudarme a salir adelante pese a las adversidades.

A mis amigos que siempre han estado conmigo brindándome todo su apoyo durante los 6 años de carrera.

*A Dios por darme la fortaleza de continuar y sobrepasar los momentos difíciles de la vida  
y por permitirme terminar satisfactoriamente mi carrera profesional.*

*A mis padres Julio Cesar Valera y Melva Andrade por el apoyo desde mis inicios, porque  
son las personas más increíbles de este mundo y sostenerme siempre, por mi padre que  
ahora me acompaña desde el Cielo.*

*A mis hermanos que siempre han sido parte de mi carrera y mis logros.*

*A mis Familiares que brindándome su apoyo para continuar a pesar de las adversidades.*

*A mi directora de tesis, la Dra. Nieves Sandoval Chaupe, por la paciencia, la amabilidad,  
la confianza y el asesoramiento en el desarrollo de mi tesis.*

*A mi amigo Mario Vargas, por el apoyo en el laboratorio de Ictiopatología.*

*A Mariella Diaz y Jessica Jurado por las horas de apoyo en el desarrollo de la parte  
práctica de la tesis.*

*A todos mis Amigos de la promoción que han estado conmigo en las buenas y en las malas.*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Aspectos generales de los peces ornamentales.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Actividad comercial de los peces ornamentales.....</b>	<b>5</b>
2.2.1 A nivel mundial .....	5
2.2.2 A nivel nacional.....	6
2.2.3 Mercado de los peces ornamentales en el Perú.....	7
2.2.3.1 Mercado nacional .....	8
2.2.3.2 Mercado internacional .....	8
2.2.3.3 Exportación de peces ornamentales desde Perú .....	9
2.2.3.4 Importaciones de peces ornamentales .....	10
2.2.4 Ingresos económicos generados por la actividad.....	11
<b>2.3 Tetra bleeding heart (<i>Hyphessobrycon erythostigma</i>).....</b>	<b>11</b>
2.3.1 Clasificación taxonómica.....	11
2.3.2 Clasificación.....	12
2.3.3 Generalidades.....	12
2.3.4 Distribución.....	12
2.3.5 Descripción.....	12
2.3.6 Condiciones del acuario.....	13
2.3.7 Comportamiento.....	14

2.3.8	Alimentación.....	14
2.3.9	Reproducción.....	14
2.3.10	Esperanza de vida.....	15
<b>2.4</b>	<b>Anatomía e histología del ojo, branquias, piel, músculo esquelético, estómago, intestino, hígado, bazo y riñón.....</b>	<b>15</b>
2.4.1	Ojo.....	15
2.4.2	Branquias.....	15
2.4.3	Piel.....	16
2.4.4	Músculo esquelético.....	16
2.4.5	Estómago.....	17
2.4.6	Intestinos.....	17
2.4.7	Hígado.....	18
2.4.8	Bazo.....	19
2.4.9	Riñón.....	19
<b>2.5</b>	<b>Sistema inmune de los peces.....</b>	<b>20</b>
2.5.1	Generalidades.....	20
2.5.2	Células y complejos celulares inmunocompetentes.....	20
2.5.3	Linfocitos.....	21
	2.5.3.1 Subpoblaciones linfoides .....	21
2.5.4	Granulocitos.....	21
	2.5.4.1 Neutrófilos .....	21
	2.5.4.2 Eosinófilos .....	22
	2.5.4.3 Basófilos.....	22
2.5.5	Monocitos.....	22
2.5.6	Centros de melanomacrófagos.....	23
2.5.7	Principales órganos linfoides.....	24
	2.5.7.1 Timo.....	24
	2.5.7.2 Riñón anterior.....	24
	2.5.7.3 Bazo.....	25
	2.5.7.4 Tejido linfoide asociado a mucosas.....	25

<b>2.6 Enfermedades en peces ornamentales</b>	<b>25</b>
2.6.1 Enfermedades de origen infecciosa	27
2.6.1.1 Enfermedades bacterianas	27
2.6.1.1.1 Enf. por <i>Flavobacterium</i> spp.	27
2.6.1.1.1.1 Características microbiológicas	27
2.6.1.1.1.2 Epidemiología	27
2.6.1.1.1.3 Signos clínicos	27
2.6.1.1.1.4 Lesiones	28
2.6.1.1.2 Enf. por <i>Staphylococcus</i> spp.	28
2.6.1.1.2.1 Características microbiológicas	28
2.6.1.1.2.2 Epidemiología	29
2.6.1.1.2.3 Signos clínicos	29
2.6.1.1.2.4 Lesiones	29
2.6.1.1.3 Enf. por <i>Pseudomonas</i> spp.	29
2.6.1.1.3.1 Características microbiológicas	29
2.6.1.1.3.2 Epidemiología	30
2.6.1.1.3.3 Signos clínicos	30
2.6.1.1.3.4 Lesiones	30
2.6.1.1.4 Enf. por <i>Aeromonas</i> spp.	30
2.6.1.1.4.1 Características microbiológicas	30
2.6.1.1.4.2 Epidemiología	30
2.6.1.1.4.3 Signos clínicos	31
2.6.1.1.4.4 Lesiones	31
2.6.1.1.5 Enf. por <i>Lactobacillus</i> spp.	31
2.6.1.1.5.1 Características microbiológicas	31



2.6.1.1.5.2	Epidemiología.....	31
2.6.1.1.5.3	Signos clínicos.....	31
2.6.1.1.5.4	Lesiones.....	32
2.6.1.1.6	Enf. por Enterobacterias .....	32
2.6.1.1.6.1	Características microbiológicas .....	32
2.6.1.1.6.2	Signos clínicos.....	33
2.6.1.1.6.3	Lesiones.....	33
2.6.1.1.7	Enf. por <i>Bacillus</i> spp. ....	33
2.6.1.1.7.1	Características microbiológicas .....	33
2.6.1.1.7.2	Epidemiología.....	33
2.6.1.1.7.3	Signos clínicos.....	33
2.6.1.1.7.4	Lesiones.....	34
2.6.1.1.8	Enf. por <i>Plesiomonas</i> spp. ....	34
2.6.1.1.8.1	Características microbiológicas .....	34
2.6.1.1.8.2	Epidemiología.....	34
2.6.1.1.8.3	Signos clínicos.....	34
2.6.1.1.8.4	Lesiones.....	34
2.6.1.1.9	Enf. por <i>Mycobacterium</i> spp. ....	34
2.6.1.1.9.1	Características microbiológicas .....	35
2.6.1.1.9.2	Epidemiología.....	35
2.6.1.1.9.3	Signos clínicos.....	35
2.6.1.1.9.4	Lesiones.....	36
2.6.1.2	Enfermedades parasitarias.....	36
2.6.1.2.1	Enf. por Mixosporidios .....	36
2.6.1.2.2	Enf. por Microsporidios .....	37
2.6.2	Enfermedades de origen no infeccioso.....	38
2.6.2.1	Enf. causada por la calidad de agua .....	38

2.6.2.1.1	El amoníaco .....	38
2.6.2.1.2	Oxígeno disuelto .....	38
2.6.2.1.3	El pH .....	38
2.6.2.2	Enf. causada por factores nutricionales.....	38
2.6.2.3	Enf. causada por neoplasias.....	39
2.7	Estado Sanitario de los peces ornamentales.....	39
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
3.1	Lugar de estudio.....	41
3.2	Material experimental.....	41
3.2.1	Tamaño muestral.....	41
3.3	Metodología.....	42
3.3.1	Toma de muestra.....	42
3.3.2	Necropsia.....	42
3.3.3	Estudio microbiológico .....	43
3.3.4	Estudio histopatológico .....	44
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>48</b>
4.1	Resultados microbiológicos.....	48
4.2	Resultados histopatológicos .....	52
<b>5</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>77</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>92</b>
<b>7</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>93</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>95</b>
<b>9</b>	<b>APÉNDICE.....</b>	<b>111</b>

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de agentes bacterianos y caracterizar las lesiones observadas en los tejidos mediante el estudio microbiológico e histopatológico en el pez ornamental tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedentes de un acuario de la ciudad de Iquitos. Se recolectaron 120 peces para el estudio microbiológico se tomaron 60 peces, los órganos evaluados fueron bazo y riñón. El aislamiento se hizo en agar MacConkey, agar GSP, Agar TSA y agar Cytophaga, luego su identificación fue mediante la coloración Gram, y pruebas bioquímicas. Los otros 60 peces fueron derivados para el estudio histopatológico, en el cual se evaluaron los tejidos de piel, ojo, branquias, estómago, intestino, hígado, bazo, músculo, riñón y peritoneo. De las muestras provenientes de bazo y riñón utilizados para el estudio microbiológico, se aislaron 6 géneros bacterianos: *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Lactobacillus* sp., *Bacillus* sp., *Flavobacterium* sp. y *Staphylococcus* sp. y *Escherichia* sp. Con respecto al estudio histopatológico, en el ojo no se observaron lesiones, sin embargo en los demás tejidos si se encontraron diversos hallazgos histopatológicos, en las branquias se observó esporas de *Mixosporidium* sp., hiperplasia y fusión de lamelas, en hígado y peritoneo se hallaron granulomas parasitarios y bacterianos; en caso del músculo, riñón y bazo también se encontraron granulomas bacterianos, y en el estómago e intestino se observó hiperplasia de las células epiteliales entre otras lesiones. Una parte de los granulomas fueron positivos a la tinción de Ziehl Neelsen, donde se evidencio bacterias bacilares largas acidorresistentes, que son compatibles con *Mycobacterium* sp. Se concluye, según el estudio la presencia de agentes bacterianos así como también diversos hallazgos histopatológicos en el tetra bleeding heart.

**Palabras clave:** *Hyphessobrycon erythrostigma*, estudio microbiológico, estudio histopatológico.

## ABSTRACT

The objective of this study was to determine the presence of bacterial agents and characterize the lesions observed in tissues by microbiological study and histopathological study in the ornamental fish tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) from the Amazon of Peru. They collected 120 fish of the Nanay river, located in the city of Iquitos. For microbiological study 60 fish were randomly taken, evaluated organs were spleen and kidney. The isolation was done in macconkey agar, GSP agar, trypticase soya agar and Cytophaga agar, and then identification was by Gram staining, bacterial morphology, and biochemical tests. The other 60 fish were derived for histopathology, in which were evaluated nine organs: skin, eye, gills, stomach, intestine, liver, spleen, kidney and peritoneum. Samples from kidney and spleen used for microbiological study, 6 bacterial genera were isolated: *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Lactobacillus* sp., *Bacillus* sp., *Flavobacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Escherichia* sp. With regard to histopathology, in the eye no injuries, however in other tissues if different lesions were observed, in the gills was observed spores *Mixosporidium* sp., hyperplasia and fusion of lamellae, liver and peritoneum were found parasitic granulomas and bacterial granulomas; in muscle, kidney and spleen bacterial granulomas were also found, in the stomach and intestine was observed epithelial hyperplasia among other injuries. Some of those bacterial granulomas are positive staining Ziehl Neelsen confirming infection by *Mycobacterium* sp. in these fish. It is concluded; the study found that the lesions observed in the different organs are related to poor water quality and infectious agents such as bacteria and parasites.

**Keywords:** *Hyphessobrycon erythrostigma*, microbiological study, histopathological study.

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b>	Eventos que contribuyeron al desarrollo del acuarismo.....	<b>pág. 45</b>
<b>Cuadro 2.</b>	Datos de extracción de peces ornamentales (unidades) en la región Loreto por especies. Periodo 2005 – 2008.....	<b>pág. 45</b>
<b>Cuadro 3.</b>	Clasificación de la lesión según el grado de afección por su extensión.....	<b>pág. 46</b>
<b>Cuadro 4.</b>	Clasificación de la Degeneración Grasa de acuerdo a la severidad y extensión de la lesión.....	<b>pág. 49</b>
<b>Cuadro 5.</b>	Frecuencia de los géneros bacterianos aislados del bazo y el riñón.....	<b>pág. 50</b>
<b>Cuadro 6.</b>	Frecuencia del tipo de bacteria aislado.....	<b>pág. 51</b>
<b>Cuadro 7.</b>	Frecuencia de alteraciones histológicas de las branquias según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 52</b>
<b>Cuadro 8.</b>	Frecuencia de alteraciones histológicas de la piel según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 49</b>
<b>Cuadro 9.</b>	Frecuencia de alteraciones histológicas del músculo esquelético según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 50</b>
<b>Cuadro 10.</b>	Frecuencia de alteraciones histológicas del estómago según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 51</b>

<b>Cuadro 11.</b>	Frecuencia de alteraciones histológicas de los intestinos según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 52</b>
<b>Cuadro 12.</b>	Frecuencia de alteraciones histológicas del hígado según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 49</b>
<b>Cuadro 13.</b>	Frecuencia de alteraciones histológicas de los riñones según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 50</b>
<b>Cuadro 14.</b>	Frecuencia de alteraciones histológicas del peritoneo según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 51</b>
<b>Cuadro 15.</b>	Frecuencia de granulomas bacterianos positivos a Ziehl Neelsen en el Tetra bleeding heart ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) procedente de Iquitos-Perú.....	<b>pág. 49</b>



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Destino de los peces ornamentales desde el año 1999 hasta el 2003	<b>Pág. 49</b>
<b>Figura 2.</b>	Los principales destinos de exportación de peces ornamentales	<b>Pág. 50</b>
<b>Figura 3.</b>	Principales países importadores de peces ornamentales en el año 2012	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 4a.</b>	Tetra corazón sangrante ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) Macho	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 4b.</b>	Tetra corazón sangrante ( <i>Hyphessobrycon erythrostigma</i> ) Hembra	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 5a.</b>	Corte medular entre el cerebro y la medula espinal	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 5b.</b>	Necropsia del Pez	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 6.</b>	Géneros bacterianos aislados	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 7.</b>	Porcentaje del tipo de bacterias aisladas	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 8.</b>	Hiperplasia de lamelas (flechas). H&E 400X	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 9.</b>	Hiperplasia de lamelas (flechas) y Fusión de Lamelas (circulo). H&E 400X. .....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 10a.</b>	Esporas de <i>Mixosporidium</i> sp. (flechas rojas) e infiltración de células inflamatorias (flechas negras). H&E 100X	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 10b.</b>	Esporas de <i>Mixosporidium</i> sp. (flechas rojas) e infiltración de células inflamatorias (flechas negras). H&E 400X	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 11.</b>	Esporas de <i>Mixosporidium</i> sp. (flechas rojas), congestión lamelar (círculo) e infiltración de células inflamatorias (flechas negras). H&E 400X	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 12a.</b>	Atrofia de los filamentos branquiales (flechas). H&E 100X	<b>Pág. 77</b>

<b>Figura 12b.</b>	Atrofia de los filamentos branquiales (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 13.</b>	Edema perilamelar (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 14.</b>	Hiperplasia epitelial (toda la lámina), áreas de necrosis (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 15.</b>	Hiperplasia epitelial (Círculo) H&E 400X.....	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 16.</b>	Necrosis epitelial. H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 17.</b>	Necrosis de las fibras musculares (flechas negras), Infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 100X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 18.</b>	Necrosis de las fibras musculares (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 19.</b>	Infiltración de células inflamatorias (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 20.</b>	Quistes con esporas de <i>Microsporidium</i> sp. (círculos). H&E (a) Vista a 100X y (b) vista a 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 21.</b>	Granuloma bacteriano en músculo esquelético (flecha azul), nótese alrededor los fibroblastos (flechas negras). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 22.</b>	Granuloma bacteriano en músculo esquelético (flecha azul), nótese alrededor los fibroblastos (flechas negras). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 23.</b>	Hiperplasia celular de la mucosa del estómago (círculo). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 24.</b>	Hiperplasia celular de la mucosa del estómago (círculo). H&E 400X.....	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 25.</b>	Atrofia de la mucosa gástrica (flechas). H&E 100X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 26.</b>	Necrosis (flechas negras) y desprendimiento de las células epiteliales (flechas rojas). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 27.</b>	Granuloma bacteriano (Círculo). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>

<b>Figura 28.</b>	Granuloma bacteriano (Círculo). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 29.</b>	Hiperplasia de las células epiteliales (círculo) y desprendimiento de las células intestinales (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 30.</b>	Necrosis de las vellosidades intestinales (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 31.</b>	Necrosis de las vellosidades intestinales (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 32.</b>	Hiperplasia de las células productoras de mucus (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 33.</b>	Degeneración hidrópica de las células intestinales (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 34.</b>	Atrofia de las células intestinales (flechas). H&E 100X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 35a.</b>	Degeneración grasa de los hepatocitos, obsérvese los hepatocitos redondeados con su núcleo excéntrico (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 35b.</b>	Degeneración grasa de los hepatocitos (flechas), se observa también un vaso sanguíneo. H&E 400X .....	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 36a.</b>	Granuloma parasitario cerca de un vaso sanguíneo (flecha roja) y degeneración hidrópica en los hepatocitos (flechas negras). H&E 100X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 36b.</b>	Granuloma parasitario cerca de un vaso sanguíneo (flecha roja) y degeneración hidrópica en los hepatocitos (flechas negras). H&E 100X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 29.</b>	Hiperplasia de las células epiteliales (círculo) y desprendimiento de las células intestinales (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 30.</b>	Necrosis de las vellosidades intestinales (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 31.</b>	Necrosis de las vellosidades intestinales (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>

<b>Figura 32.</b>	Hiperplasia de las células productoras de mucus (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 33.</b>	Degeneración hidrópica de las células intestinales (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 34.</b>	Atrofia de las células intestinales (flechas). H&E 100X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 35a.</b>	Degeneración grasa de los hepatocitos, obsérvese los hepatocitos redondeados con su núcleo excéntrico (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 35b.</b>	Degeneración grasa de los hepatocitos (flechas), se observa también un vaso sanguíneo. H&E 400X .....	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 36a.</b>	Granuloma parasitario cerca de un vaso sanguíneo (flecha roja) y degeneración hidrópica en los hepatocitos (flechas negras). H&E 100X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 36b.</b>	Granuloma parasitario cerca de un vaso sanguíneo (flecha roja) y degeneración hidrópica en los hepatocitos (flechas negras). H&E 100X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 37.</b>	Granuloma Parasitario (flecha roja), obsérvese fibroblastos rodeando a la estructura parasitaria (flechas negras). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 38.</b>	Áreas de necrosis de los hepatocitos (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 39.</b>	Necrosis en los hepatocitos (círculo). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 40.</b>	Granuloma bacteriano (flecha negra) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas) en el hígado H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 41.</b>	Congestión hepática, obsérvese los vasos sanguíneos pletorizados (flechas). H&E 100X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 42.</b>	Degeneración hidrópica de los túbulos renales (flechas). H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 43.</b>	Edema peritubular (flechas). H&E 400 X.....	<b>Pág. 78</b>

<b>Figura 44.</b>	Granuloma bacteriano en el riñón (flechas rojas). H&E 400X.....	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 45.</b>	Atrofia de los túbulos renales (flechas negras) y áreas de necrosis (flecha roja). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 46.</b>	Necrosis de los túbulos renales (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 47.</b>	Necrosis de los túbulos renales (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.....	<b>Pág. 76</b>
<b>Figura 48a.</b>	Granulomas bacterianos (flechas rojas), obsérvese los fibroblastos rodeando a estas estructuras bacterianas (flechas negras) en el Peritoneo. H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 48b.</b>	Granulomas bacterianos (flechas rojas), obsérvese los fibroblastos rodeando a estas estructuras bacterianas (flechas negras) en el Peritoneo. H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 48c.</b>	Granulomas bacterianos (flechas rojas), obsérvese los fibroblastos rodeando a estas estructuras bacterianas (flechas negras) en el Peritoneo. H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 48d.</b>	Granulomas bacterianos (flechas rojas), obsérvese los fibroblastos rodeando a estas estructuras bacterianas (flechas negras) en el Peritoneo. H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 49.</b>	Múltiples granulomas bacterianos (círculo) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas) en el Peritoneo. H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 50.</b>	Granuloma bacteriano (flecha roja) e infiltración de células inflamatorias (flechas negras) en el Peritoneo H&E 400X.....	<b>Pág. 77</b>
<b>Figura 51a.</b>	Granuloma parasitario (flecha roja), obsérvese los fibroblastos rodeando a estas estructuras parasitarias (flechas negras) en el Peritoneo. H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>
<b>Figura 51b.</b>	Granuloma parasitario (flecha roja), obsérvese los fibroblastos rodeando a estas estructuras parasitarias (flechas negras) en el Peritoneo. H&E 400X.....	<b>Pág. 78</b>

**Figura 52a.** Granulomas bacterianos positivos a Ziehl Neelsen, obsérvese bacterias bacilares acidorresistentes en el interior de los granulomas (círculo). Ziehl Neelsen 1000X.

.....**Pág. 78**

**Figura 52b.** Granulomas bacterianos positivos a Ziehl Neelsen, obsérvese bacterias bacilares acidorresistentes en el interior de los granulomas (círculo). Ziehl Neelsen 1000X.

.....**Pág. 78**

**Figura 52c.** Granulomas bacterianos positivos a Ziehl Neelsen, obsérvese bacterias bacilares acidorresistentes en el interior de los granulomas (círculo). Ziehl Neelsen 1000X.

.....**Pág. 78**



## **I.INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, la explotación y el comercio de peces ornamentales se ha convertido en una actividad económicamente importante, esto por la gran demanda a nivel nacional como internacional. Es necesario por ello que los peces que sean explotados, estén libres de enfermedades y que puedan ser vendidos asegurando su bienestar en los acuarios para de esta manera satisfacer el mercado y poder competir exitosamente con otros países que realizan esta misma actividad.

La salud de los peces puede estar afectada por enfermedades causadas por agentes patógenos como las bacterias, parásitos, hongos y virus, que causan daño y lesionan a los distintos órganos hasta acabar con la vida de estos peces. Estas enfermedades se propagan muy rápido ya que el agua sirve como medio de infección. Muchas de las enfermedades son producidas por bacterias, las cuales ingresan al medio acuático debido a un mal manejo y otras viven como flora normal o se encuentran en el agua, sin embargo cuando se presenta algún factor que estresa a los peces, hay una respuesta inmune ineficiente, lo cual es muy bien aprovechado por estas bacterias para provocar infecciones. Sumamos a todo esto, la existencia de enfermedades bacterianas en peces de acuario con capacidad de transmitirse al humano y que tiene implicancia relevante en salud pública.

En el presente trabajo, se realiza el estudio microbiológico e histopatológico en el pez ornamental tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) proveniente de la Amazonía del Perú.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 ASPECTOS GENERALES DE LOS PECES ORNAMENTALES**

Son llamados peces ornamentales a ciertos peces con características físicas peculiares y llamativas que son criados en acuarios que tienen la finalidad de adornar y decorar ambientes (Panné y Luchinni, 2008). Ellos son mantenidos como mascotas con todos sus cuidados respectivos.

También se les puede definir en un término general para describir a aquellos peces de gran colorido mantenidos en acuarios que son manejados por aficionados (Livengood y Chapman, 2007). Los acuarios deben simular lo más posible el ambiente natural de donde provienen.

El mantenimiento de peces con fines estéticos es una actividad antigua que ha existido durante miles de años, muchos eventos contribuyeron al desarrollo del acuarismo (Cuadro 1), con evidencia que remonta hacia 500 a.C. Podemos encontrar ejemplos en las culturas antiguas como la egipcia, romana y especialmente la oriental (Ribeiro *et al.*, 2010). Los antiguos romanos en el Siglo II elaboraron estanques donde mantenían peces marinos ornamentales. Los chinos desarrollaron la crianza de peces de colores en 619- 907 d.C. y el año 960 d.C. se mantuvieron peces de colores como animales domésticos en estanques. A partir de 1276 se empezaron a criar goldfish (*Carassius auratus*) y ya para 1548 la crianza de goldfish (*Carassius auratus*) era un pasatiempo popular en toda China luego esta

actividad llegó hasta Japón y en el siglo XVI se establece. (Fosså, 2004). Portugal probablemente es el primer país europeo donde se introduce también esta especie de pez ornamental y luego llega a Gran Bretaña, en 1700 ya era una afición popular en toda Europa. Al continente americano llega esta afición a mitad de 1850 y después de 15 años (1865) ya había una tienda de peces en Nueva York. En 1910 un gran número de peces nativos de América del Sur y de Asia son importados a Europa. En el siglo XX esta actividad se convierte en industria, siguió creciendo con la importación y exportación de peces exóticos, producción de muchas especies y el mejoramiento de técnicas para viajes de larga distancia (Miller-Morgan, 2010).

**Cuadro 1. Eventos que contribuyeron al desarrollo del acuarismo.**

Periodo	Lugar	Acontecimiento
1000 a.C.	Lycia (Turquia)	Peces sagrados, usados para previsión del futuro.
500 a.C.	Roma	Tanques de mármol con agua salada y peces.
50 d.C.	Pompéia	Paneles de vidrio que posibilitan la visión de los peces.
Siglo X	China	El goldfish es un animal común en las casas.
1369	China	El emperador Hung Wu establece una fábrica de tanques de porcelana para mantener a los peces ornamentales.
1500	Japón	El goldfish llega al Japón.
1572	Europa	El Alemán Leonhard Thurneysser fábrica esferas de vidrio para mantener a los peces.
1611	Portugal	Llegada del goldfish al continente europeo.
1691	Gran Bretaña	Llega el goldfish
1770	Europa	El goldfish se vuelve popular en todo el continente

1850	América	El goldfish llega a EE.UU.
1853	Gran Bretaña	Primer gran acuario público se abre en el zoológico de Londres.
1870	Alemania	Surge la primera asociación de acuaristas
1876	EE.UU.	“The New York Aquarium Journal”, aparece la primera revista sobre acuariofilia.
2010	EE.UU.	De acuerdo con el APPA (Asociación americana de productos para mascotas), en los Estados unidos hay 14 millones de casas que poseen acuarios con más de 180 millones de peces ornamentales.

Fuente: Ribeiro *et al.*, 2010

Al comienzo las técnicas de mantenimiento de los peces eran pobres y el conocimiento sobre las necesidades de los organismos acuáticos era muy escaso, pero con el desarrollo de la tecnología y el conocimiento, la mantención de los peces y demás seres acuáticos fue más fácil (Ribeiro *et al.*, 2010).

## **2. 2 ACTIVIDAD COMERCIAL DE PECES ORNAMENTALES**

### **2.2.1 A nivel mundial**

La gran demanda de peces ornamentales por los acuaristas a nivel mundial es una actividad creciente. Cada año se comercializan más de 150 millones de peces ornamentales de agua dulce y marina (Gallo, 1999).

En el 2012 fue Singapur el principal país exportador de este rubro con US\$ 61. 8 millones y en cuanto a Sudamérica Colombia es uno de los países que más exporta peces ornamentales y se ubica en el puesto 12 en el ranking mundial de los países que más exportan peces ornamentales (Portal Comercio Internacional, 2013).

### 2.2.2 A nivel nacional

La pesca ornamental es una actividad económica que viene creciendo en los últimos años por la alta demanda a nivel internacional (IIAP, 2009).

La recolección o captura de los peces ornamentales se realiza como actividad complementaria, la realizan en su mayoría hombres, niños y jóvenes; existen también familias completas dedicadas a esta actividad durante todo el año (Ruiz, 2005).

La pesca de peces ornamentales puede causar un gran impacto no solo económico sino también social a nivel nacional y regional, en el caso de Perú un estudio hecho en el 2006 reveló que 100 000 personas se beneficiaban con la extracción de peces ornamentales (FAO, 2008).

Los peces son capturados en las cochas, quebradas, donde desembocan los ríos Ucayali y Nanay, que representan el 50% de la totalidad de los lugares de donde provienen los peces ornamentales llegan después a Iquitos para mantenerlos en los acuarios y luego ser transportados a Lima por vía aérea. Una parte de estos peces llegan a Lima y desde allí se venden a otras Provincias (Arequipa, Ica o Lambayeque) (Ruiz, 2005). Se han registrado 35 criadores de peces ornamentales en Iquitos (WWF, 2006).

Se calcula que en la ciudad de Loreto la actividad pesquera ornamental origina empleo directo alrededor de 5, 500 personas y empleo indirecto alrededor de 270 personas, en suma 5770 personas están beneficiadas con la actividad de pesca y comercio de peces ornamentales (Ruiz, 2005). En la región Loreto se capturan variedad de especies ornamentales siendo el tetra bleeding heart uno de los más extraídos (Cuadro 2).

La captura de las diferentes especies ornamentales se realiza de acuerdo a cada especie en caso del tetra bleeding heart se cocina una especie de novia y se esparce en la zona de pesca, se espera que lleguen los peces y luego son capturados con una red de malla pequeña (Ruiz, 2005).

Los acopiadores son aquellos que compran a los pequeños pescadores del lugar, ellos tiene contacto con compradores de los acuarios exportadores (Ruiz, 2005).



Solamente se regula a los acuarios que exportan y no a los acopiadores de los ríos (Aspectos socioeconómicos y de manejo sostenible del comercio internacional de peces ornamentales de agua dulce en el Norte de Sudamérica, 2006).

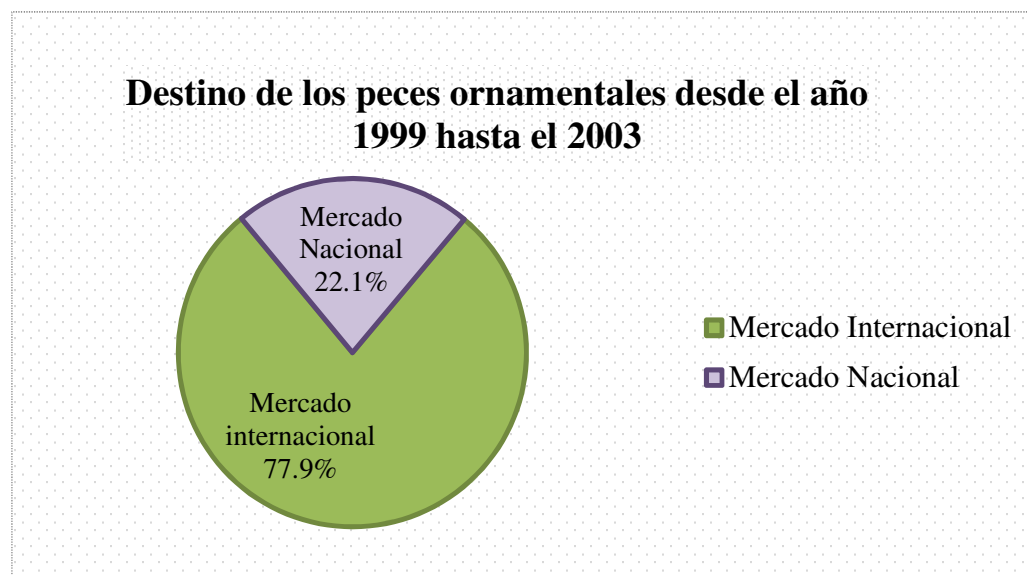
**Cuadro 2. Datos de extracción de peces ornamentales (unidades) en la región Loreto por especies. Periodo 2005 – 2008 (Araujo y Bances, 2009).**

<b>Especies</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>Σ</b>	<b>Prom.</b>
Otocinclus	3,187,451	2,708,064	1,599,210	1,931,636	9,426,361	2,356,590
Arahuana	735,842	864,518	863,666	1,578,426	4,042,452	1,010,613
<b>Bleeding heart</b>	<b>332,491</b>	<b>385,074</b>	<b>379,945</b>	<b>291,070</b>	<b>1,388,580</b>	<b>347,145</b>
Blue tetra	252,784	246,617	166,660	140,735	806,796	201,699
Corydora	478,955	448,689	224,422	207,397	1,359,463	339,866
Strigata	183,584	119,015	133,636	109,586	547,821	136,955
Tetra neon	311,731	89,485	64,714	47,113	937,518	234,380

### 2.2.3. Mercado de los peces ornamentales en el Perú

Se estima que desde 1999 hasta el 2003 el porcentaje de peces ornamentales con destino internacional fue 77.9% y solo el 22.1% para comercialización nacional (Figura 1) (IIAP, 2009).

**Figura 1. Destino de los peces ornamentales desde el año 1999 hasta el 2003.**



Fuente: IIAP, 2009.

#### 2.2.3.1 Mercado nacional

El mayor mercado de peces ornamentales está en Lima, existe muchos pet shop y algunos acuarios minoristas donde venden peces ornamentales amazónicos. En Lima existen alrededor de 110 acuarios minoristas registrados y también existen 683 tiendas de mascotas de las cuales muchas venden peces ornamentales (Ruiz, 2005).

#### 2.2.3.2 Mercado internacional

Las exportaciones de peces ornamentales se incrementaron un 11% durante el año 2010, el principal destino de las exportaciones fue Hong Kong (China) con un 45% de participación y con un crecimiento del 30% con respecto al año 2007. El segundo país principal de exportación es Estados Unidos con 13% de participación, Japón representa el 10% de las exportaciones y Taiwán (China) con un 9%. Otros países como Tailandia, Republica Checa y Canadá también aumentaron su demanda en 52%, 52% y 26% respectivamente (FAO, 2010).

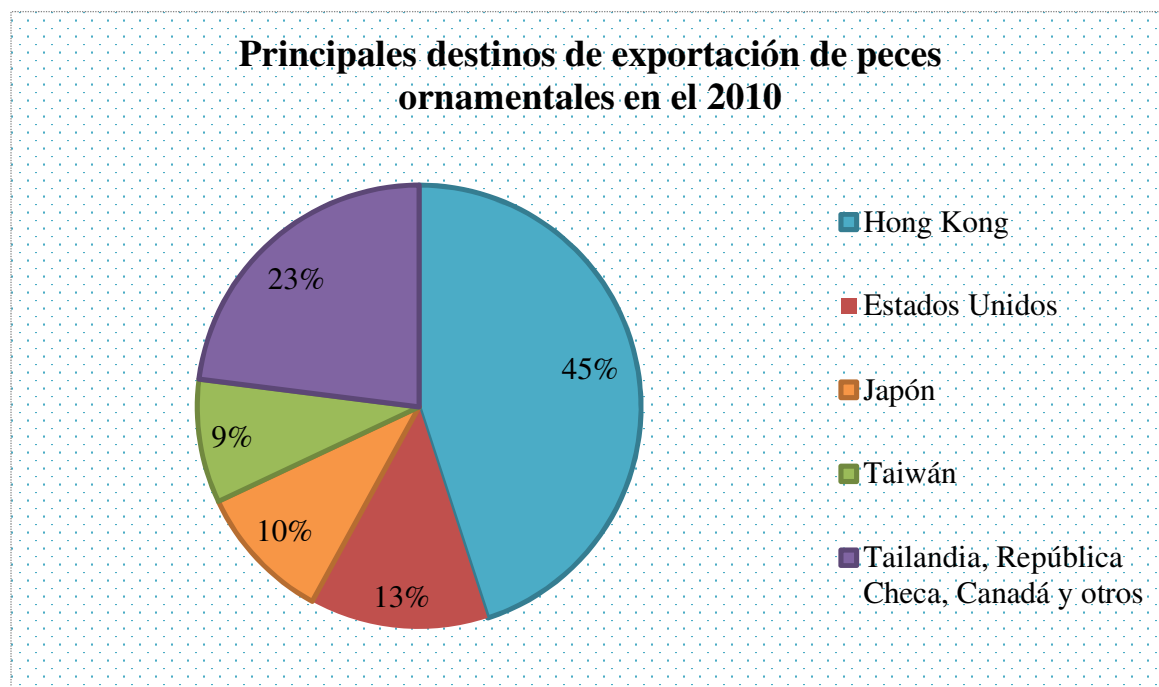
### 2.2.3.3 Exportación de peces ornamentales desde Perú

La mayor parte de los peces que son exportados provienen de sus ambientes naturales y muy pocos de crianzas tecnificadas (IIAP, 2009).

Entre 1999 y 2003 el Perú exportó de 8 a 11 millones de unidades y en el 2002 el valor de la venta fue de US\$ 2.3 millones. Se exportan alrededor de 772 especies de peces ornamentales de agua dulce y la mayoría proviene de Iquitos (WWF, 2006). Los peces exportados desde el Perú, el 80% aproximadamente llega a Miami y Los Ángeles y desde allí son reexportados a Asia principalmente. En los últimos años muchas de las especies ornamentales se capturan a pedido (Ruiz, 2005).

El número de ciudades del exterior en las cuales se comercializan los peces ornamentales aumento en un 20% en el periodo de los años 2005 – 2008 (Araujo y Bances, 2009) (Figura 2).

**Figura 2. Los principales destinos de exportación de peces ornamentales.**



Fuente: OEA, 2010.

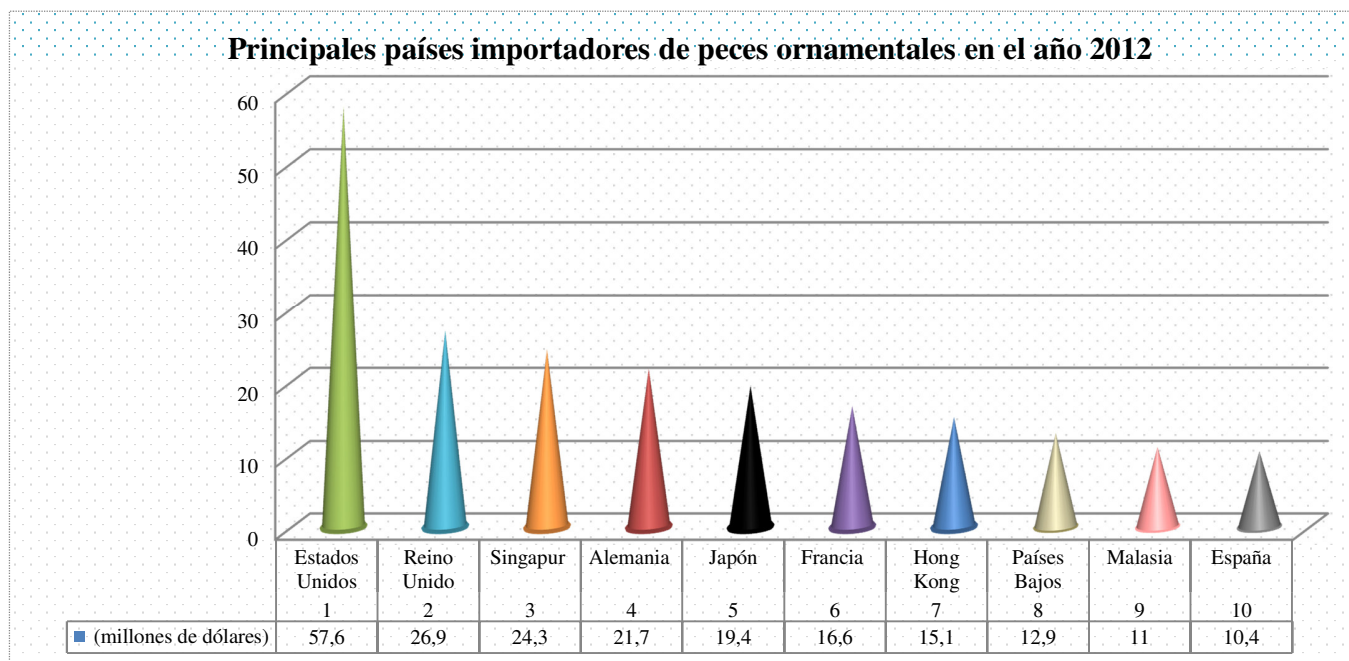
#### 2.2.3.4 Importaciones de peces ornamentales

Con respecto a las importaciones de peces ornamentales se pudo observar que en el año 2012 el principal país fue Estados Unidos con un valor de 57,6 millones de dólares, en segundo país más importador fue el Reino con 26,9 millones de dólares, el tercer lugar lo ocupó un país asiático, en este caso Singapur con 24,3 millones de dólares; en el cuarto quedó Alemania y el quinto fue para Japón con 21,7 y 19,4 millones de dólares respectivamente. En la Figura 3 se pueden observar los 10 principales países importadores de peces ornamentales en el año 2012.

Con respecto a las importaciones de peces ornamentales se pudo observar que en el año 2012 el principal país fue Estados Unidos con un valor de 57,6 millones de dólares, en segundo país más importador fue el Reino con 26,9 millones de dólares, el tercer lugar lo ocupó un país asiático, en este caso Singapur con 24,3 millones de dólares; en el cuarto quedó Alemania y el quinto fue para Japón con 21,7 y 19,4 millones de dólares respectivamente. En la Figura 3 se pueden observar los 10 principales países importadores de peces ornamentales en el año 2012.

**Figura 3. Principales países importadores de peces ornamentales en el año 2012.**

Fuente: Portal Comercio Internacional. 2013



### 2.3.4 Ingresos económicos generados por la actividad

La industria de la acuariofilia es un mercado que se encuentra en expansión, no se tiene cifras exactas ni valores de comercio internacional pero se cree que genera ingresos mayores de US\$ 300 millones con una tasa de crecimiento anual del 14% (Lango *et al.*, 2012). En lo que respecta a los ingresos por la venta de peces ornamentales en los años 2005 – 2008 han sumado en total más de 12 millones de dólares, observándose un aumento de más del 70% en estos 4 años (Araujo y Bances, 2009).

El Perú logró generar US\$496 mil por exportar peces ornamentales a Estados Unidos logrando un crecimiento del 12,5% respecto del año pasado, lo que convierte a nuestra nación en un país con mayor crecimiento en sus exportaciones de peces ornamentales. Estados Unidos es el principal país que importa gran cantidad de peces ornamentales en el mundo y esto debido a que alrededor de 16,1 millones de hogares manifiestan una gran preferencia de peces ornamentales como mascotas como lo indicó el boletín del Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior (Siicex) (El Comercio, 2014).

## **2.3 TETRA BLEEDING HEART O TETRA CORAZÓN SANGRANTE** (*Hyphessobrycon erythrostigma*)

### 2.3.1 Clasificación taxonómica

Reino: Animal

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Clase: Actinopterygii

Orden: Characiformes

Suborden: Characoidei

Familia: Characidae

Género: *Hyphessobrycon*

Especie: *H. erythrostigma*

(Fowler, 1943)

### 2.3.2 Clasificación

El género *Hyphessobrycon* pertenece a la familia de los carácidos (*Characidae*), más conocida por el nombre de tetras y uno de los grupos de peces más populares en la acuariofilia. Esta especie fue descrita en 1943 por Fowler, que le asignó el nombre de *Hemmigrammus erythrostigma*; posteriormente se hizo un cambio de género y el nombre científico actualmente válido es *Hyphessobrycon erythrostigma* (Garvía, 2009).

### 2.3.3 Generalidades

Este pez es ideal en un acuario amazónico, este tetra tiene una apariencia majestuosa y es muy apreciado por los aficionados europeos, entre los que es conocido por nombres comunes muy curiosos: tetra de mancha roja, tetra de Pérez o tetra corazón sangrante. (Garvía, 2009).

### 2.3.4 Distribución

Su distribución geográfica abarca Colombia y la cuenca amazónica de la zona fronteriza entre Brasil y Perú; en este último país parece especialmente abundante. Su hábitat más común lo constituyen las aguas de pequeños y medianos arroyos, preferentemente en las orillas con abundante vegetación flotante, en donde viven en cardúmenes más o menos numerosos (Garvía, 2009).

### 2.3.5 Descripción

Es un pez grande para ser un tetra; alcanza los 6- 7 cm de longitud, pueden llegar a una talla máxima de 9- 10 cm. de aspecto robusto y el cuerpo aplanado por los costados. Presenta una coloración entre color marrón y grisáceo con ligeros matices rojizos o rosáceos, que se detectan mejor cuando el pez se excita, los costados tienen tonos plateados

iridiscentes y la zona ventral de color anaranjado de aspecto nacarado. Un detalle muy característico de su anatomía es la presencia de una mancha rojiza bien visible justo detrás del opérculo, cerca del nacimiento de la aleta pectoral. Desde la mitad del cuerpo, es decir detrás de la macha rojiza, hasta la base de la cola tiene una línea longitudinal rojiza. Una línea negra vertical recorre el ojo, que presenta la parte superior de color rojo. Su boca es orientada hacia arriba. La aleta dorsal es diferente según el sexo, en las hembras es más corta y presenta un mancha negra (Figura 4a); en los machos es más larga y tiene radios delanteros espinosos negros, un reborde blanquecino y una mancha negra en la que, según va alcanzando la madurez, el color negro se puede ir tornando rojizo (Figura 4b) (Garvía, 2009).

**Figuras 4. Tetra corazón sangrante (*Hyphessobrycon erythrostigma*) (a) Hembra, (b) Macho**



**a**



**b**

Fuente: Garvía, 2009

#### 2.3.6 Condiciones del acuario

Se debe mantener el agua a una temperatura de 23- 26°C, blanda (GH no superior a 10) y ligeramente ácida (pH 6-6,5). Para adecuar un ambiente ideal en el acuario se debe plantar densamente algunas zonas del acuario con plantas acuáticas, en donde pueden esconderse. La iluminación debe ser de media a baja. Es una especie sensible a los cambios bruscos en las condiciones de agua. Si los parámetros físico-químicos no se mantienen estables, la salud del pez se puede deteriorar rápidamente (Garvía, 2009).

### 2.3.7 Comportamiento en acuario

El tetra corazón sangrante tiene un carácter pacífico, gregario y algo asustadizo. Se adapta muy bien a los acuarios comunitarios con la única precaución de que no se mantenga con otras especies nerviosas y de movimientos muy rápidos, que pueden tenerlos permanentemente asustados. Los grupos de 6 a 8 individuos parecen ser los más recomendados por los expertos, aunque también puede ser mantenido en pareja sin problemas. En ocasiones es posible observar a los machos intentando intimidarse entre sí, abriendo al máximo las aletas y los opérculos (Garvía, 2009).

### 2.3.8 Alimentación

En libertad es prácticamente carnívoro, capturando pequeños gusanos, insectos y otros invertebrados, aunque no desprecia ocasionalmente otras materias nutritivas. En cautiverio es omnívoro y generalmente se acostumbra a comer de todo, desde alimento vivo a comida congelada y seca en escamas (Garvía, 2009).

### 2.3.9 Reproducción:

No es una especie que se reproduzca fácilmente en el acuario. Parece que es muy importante, sino imprescindible, para lograr la reproducción que los posibles reproductores sean alimentados previamente con alimento vivo (Riehl & Baensch, 1994) Se reproducen en pareja y dispersan los huevos, que se quedan entre la vegetación y por los cuales los padres no hacen ningún cuidado. (Garvía, 2009) El cortejo se realiza en las primeras horas del día, los machos persiguen a las hembras hasta situarse ambos en alguna planta. El número de huevos por puesta puede variar, como mínimo entre 20 - 30 huevos y como máximo llegar hasta 100. (Garvía, 2009). La incubación viene a durar entre 48- 72 horas, los alevines nadan libremente en 5 días (Mojjeta, 1995), sin embargo tardan mucho más tiempo en abandonar la seguridad de su escondite entre las plantas. Crecen muy rápido el primer mes pero posteriormente se frena mucho su crecimiento (Petrovicky, 1990).



#### 2.3.10. Esperanza de vida:

Es una especie que se adapta a vivir muy bien en el acuario. Cuando están aclimatados, es fácil que muchos ejemplares lleguen a vivir de 2-5 años en cautividad (Garvía, 2009).

### **2.4 ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DE OJO, BRANQUIAS, PIEL, MÚSCULO ESQUELÉTICO, ESTÓMAGO, INTESTINO, HÍGADO, BAZO Y RIÑÓN DE LOS PECES TELEÓSTEOS.**

#### 2.4.1. Ojo

El ojo es el órgano que permite percibir la luz, en ambientes acuáticos la luz varía en cuanto a su longitud de onda, intensidad y dispersión, por lo cual genera características distintas en cada micro-hábitat (Tovar *et al.*, 2008).

El ojo de cada especie de pez debe estar condicionado para responder a los estímulos que suceden en su entorno como poder percibir a sus depredadores, presas, pareja, cambios de hábitat durante el ciclo de vida. La estructura ocular es un poco similar a los demás vertebrados, pero debido a los diferentes ambientes acuáticos existen numerosas variaciones en su anatomía y función. Tiene tres funciones diferentes: coleccionar la luz, enfocar las imágenes en la retina y transformar las imágenes en señales neurales (Tovar *et al.*, 2008).

El ojo tiene una capa externa o túnica fibrosa, donde se ubican la esclerótica y la córnea; una túnica media donde se encuentran la coroides y el iris, y finalmente una capa interna llamada retina donde se encuentran las células receptoras de luz (conos y bastones). El cristalino es la única estructura que tiene netamente funciones ópticas, es de forma casi esférica en la mayoría de peces teleósteos (Tovar *et al.*, 2008).

#### 2.4.2 Branquias

Están formadas en la mayoría de los teleósteos por cuatro a cinco arcos branquiales, ubicados a cada lado de la faringe, en el borde posterior de cada arco branquial se proyectan filamentos branquiales o laminillas primarias, las cuales presentan laminillas

secundarias dispuestas en la parte superior e inferior de cada filamento para aumentar la superficie respiratoria. (Amlacher, 1961; Ellis, 1981).

La superficie de las branquias está cubierta con un epitelio simple plano, presentado tres tipos de células: las células pavimentosas, las células de cloro, éstas últimas de forma redondeadas o poligonales, ácidofilas, con numerosas mitocondrias, se ubican en el extremo proximal de las laminillas secundarias, y las células mucosas dispuestas en las laminillas y en el epitelio basal. También se describen las células pilares, que soportan los múltiples capilares distribuidos en las laminillas secundarias (Hibiya *et al.*, 1982; Evans *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2005).

#### 2.4.3. Piel

La piel está constituida por epidermis, dermis e hipodermis.

La epidermis de los peces está conformada por un epitelio plano estratificado no queratinizado (Elliot, 2000). La epidermis de los peces presenta diferentes tipos de células como células epiteliales entre las cuales se encuentran regularmente células mucosas, células clava de gran tamaño, células sensoriales, fibras nerviosas. (Grazzle, 1976; Ottensen y Olafsen, 1997; Elliot, 2000; Webb, 2000; Stone *et al.*, 1995), las células mucosas producen un moco que proporciona cierta protección contra las infecciones bacterianas y ayuda a asegurar el flujo laminar de agua a los de la superficie del cuerpo (Aquino, 2009).

La dermis está compuesta por tejido conjuntivo denso o fibroso; posee algunas capas de células de pigmento en la parte marginal entre la epidermis y la hipodermis, las cuales dan el color a los peces (Elliot, 2000; Souza *et al.*, 2003; Le Guellec, 2004). La hipodermis separa la parte interna de la dermis del músculo subyacente, es considerada como una variante del tejido conjuntivo donde se encuentra una malla de tejido reticular, adipocitos y vasos sanguíneos. (Le Guellec, 2004).

#### 2.4.4. Músculo esquelético

La musculatura lateral es un típico ejemplo del músculo estriado en teleósteos, estructurado en capas de fibras musculares dispuestas a ambos lados del cuerpo desde la

cabeza hacia la cola. El tejido conectivo se halla dispuesto entre el tejido muscular formando mioseptos. Los peces poseen dos tipos de fibras locomotoras dispuestas en capas: Fibras rojas o lentas y fibras blancas o rápidas; también existe una capa de fibras intermedias (Alltringham y Ellerby, 1999; Ellerby *et al.*, 2000; Rescan *et al.*, 2001; Kiessling *et al.*, 2006). Las fibras musculares están compuestas de sarcoplasma, miofibrillas, núcleo y sarcolema. El núcleo esta siempre ubicado al lado del sarcolema, puede haber más de un núcleo en una fibra muscular. Las fibras rojas o de contracción lenta son altamente vascularizadas, alta cantidad de mitocondrias, reservas de glucógeno, alta concentración de mioglobina y citocromos. Las fibras blancas o de contracción rápida son todo lo contrario, tienen baja cantidad de mitocondrias, menor número de glucógeno y de mioglobina y pobre vascularización (Hibiya *et al.*, 1982; Kiessling *et al.*, 2006).

#### 2.4.5. Estómago

El tamaño y su forma son variables dependiendo de la función de los hábitos alimenticios. El estómago comúnmente tiene una forma sigmoidea (más pronunciada en carnívoros) con un saco ciego, más o menos largo, que se dirige hacia caudal. Su interior se divide en tres partes: (cardias, fundus y píloro) (Gil *et al.*, 2014).

El epitelio de la mucosa es simple y con pliegues, siendo un epitelio simple cuboidal en la porción cardíaca y columnar (Hibiya *et al.*, 1982). La mucosa tiene gran cantidad de pliegues y numerosas glándulas secretoras de ácido clorhídrico, pepsina y mucus (Gil *et al.*, 2014), está conformada de un epitelio, lámina propia y muscular de la mucosa. Se pueden observar los estratos granular y compacto en la lámina propia. La muscular tiene la capa circular interna y la capa longitudinal externa (Hibiya *et al.*, 1982) y la lámina propia contiene a las glándulas gástricas soportadas por tejido conectivo laxo, que se abren en las criptas de los pliegues de la mucosa (Ellis *et al.*, 1981; Hibiya *et al.*, 1982).

#### 2.4.6. Intestinos

Se dispone a manera de tubo desde el píloro hasta el ano, es relativamente corto en peces carnívoros y más largo en peces herbívoros (Gil *et al.*, 2014). Histológicamente el intestino es un tubo con numerosos pliegues oblicuos que retardan el paso del alimento y aumentan

el área de absorción de nutrientes (Atencio *et al.*, 2003), constituido de una capa mucosa, submucosa, muscular y serosa (Orvay, 1993).

Anatómicamente se divide en cuatro regiones: ciegos pilóricos, intestino anterior, intestino posterior y recto. Los ciegos pilóricos: Son proyecciones digitiformes ciegas del tubo digestivo se extienden a partir del píloro del estómago o de la parte más craneal del intestino y pueden quedar comunicados de forma independiente o tener un orificio común (Gil *et al.*, 2014). El epitelio que recubre la capa mucosa es simple cilíndrico con abundantes células caliciformes (Atencio *et al.*, 2003). La mucosa es provista de gran cantidad de pliegues con glándulas secretoras de enzimas como: lactasa, sacarasa y lipasa que intervienen en la digestibilidad de las grasas y en la absorción de los alimentos ya digeridos ya que amplían el área del tubo digestivo (Gil *et al.*, 2014).

Los pliegues de la mucosa intestinal van disminuyendo desde el intestino anterior al intestino posterior y en el recto los pliegues intestinales son cortos, su pared muscular es más gruesa y con un alta capacidad de distensión. Entre el intestino posterior y recto hay una válvula intestinal (Gil *et al.*, 2014).

Hacia la parte posterior del intestino hay un incremento moderado en la cantidad de células caliciformes permitiendo diferenciar el intestino anterior del posterior (Atencio *et al.*, 2003).

#### 2.4.7. Hígado

Se encuentra caudal al corazón, tiene gran tamaño y la coloración que presenta depende los hábitos alimenticios de cada pez. Mayormente se pueden observar de color marrón o rojizo en peces carnívoros y marrones claros en los peces herbívoros. Sin embargo, en peces criados de forma intensiva se puede observar una coloración blanquecina o amarillenta debido a la acumulación de grasa (hígado graso) (Gil *et al.*, 2014).

Los lóbulos no son tan notorios (varían con la especie), y en algunas especies el hígado también integra al páncreas, llamándose hepatopáncreas. Sus funciones son: segregar bilis

que puede almacenarse en una vesícula biliar de tamaño y forma variable, almacenar glucógeno y grasa (Gil *et al.*, 2014).

Histológicamente las paredes de los conductos biliares están revestidas por un epitelio cúbico simple, soportado por una capa de tejido conectivo y fibras musculares (Hibiya *et al.*, 1982; Vicentini *et al.*, 2005). Las ramas de la arteria hepática y vena porta así como los conductos biliares se distribuyen por todo el parénquima (Gil *et al.*, 2014), se ha observado la presencia de melanomacrófagos alrededor de los canalículos biliares, arterias y venas; así mismo la ausencia de células de Kuppfer (Ellis *et al.*, 1981; Rocha *et al.*, 1994).

#### 2.4.8 Bazo

Órgano con una forma y tamaño variable, se suele situar cerca al estómago. Tiene una coloración roja oscura y estructuralmente no presenta separación entre la pulpa roja y blanca, también se puede observar centros de melanomacrófagos (agregados de macrófagos que contienen melanina y hemosiderina) (Gil *et al.*, 2014).

#### 2.4.9. Riñón

La porción anterior del riñón denominada cabeza, posee tejido hematopoyético, linfoide y endocrino; y la parte posterior denominada cuerpo posee tejido excretor rodeado de tejido hematopoyético y linfoide (Reimshuessel, 2001; Meyer *et al.*, 2002).

El tejido intersticial ubicado en la parte anterior y entre los túbulos de la parte posterior del riñón está compuesto por tejido hematopoyético, glóbulos rojos en diferentes estados de mitosis, sinusoides, capilares, centro melanomacrófagos, pigmentos de hemosiderina y melanina (Hibiya *et al.*, 1982; Meyer *et al.*, 2002).

El corpúsculo renal está formado por el glomérulo y la cápsula de Bowman formada por una capa parietal de tejido epitelial plano simple y una visceral formada por células con prolongaciones llamadas podocitos, las cuales se adhieren a los capilares del glomérulo (Hibiya *et al.*, 1982). El segmento del cuello está revestido por una capa de epitelio columnar simple ciliado, el segmento proximal se divide en los segmentos I y II; El primero está revestido por epitelio columnar simple ciliado con abundantes

microvellosidades, el núcleo es oval a esférico y puede estar ubicado en posición central o basal, el segundo segmento es similar al primero, diferenciándose sólo en un mayor diámetro de los túbulos, lumen estrecho y mayor cantidad de mitocondrias. El segmento distal no presenta casi microvellosidades en su epitelio, el núcleo es oval o esférico y en posición basal, estas características se mantienen en los túbulos colectores (Ellis, 1981; Hibiya *et al.*, 1982).

## **2.5 SISTEMA INMUNE DE LOS PECES**

### **2.5.1 Generalidades**

El sistema inmune de los peces es similar al de los demás vertebrados sin embargo existen algunas diferencias importantes.

La respuesta inmune de los peces se divide en dos tipos: la primera es la respuesta innata o inespecífica (Fernández *et al.*, 2002), es la primera línea de defensa que responde a cualquier infección en los peces y está conformada por las barreras físicas como las superficies mucosas, la piel y el moco pero también una variedad de células como los macrófagos (Dalmo *et al.*, 1997; Heppell y Davis, 2000; Fernández *et al.*, 2002).

La otra respuesta se trata de la inmune adquirida o específica, la cual es una respuesta inducida y es necesario la presencia de células linfocíticas que reaccionan de manera específica con el antígeno, aquí observamos una respuesta humoral la cual es mediada por anticuerpos y por otro lado una respuesta celular mediada por los linfocitos T (Fernández *et al.*, 2002).

### **2.5.2 Células y complejos celulares inmunocompetentes**

Las células encargadas de la respuesta inmune son llamadas células blancas o leucocitos. Dichas células están clasificadas por criterios de morfología y se distinguen como: linfocitos, granulocitos y monocitos o macrófagos. La cantidad de leucocitos en sangre es muy variable y varía en cada especie (Fernández *et al.*, 2002).

### 2.5.3 Linfocitos

Células con gran capacidad de diferenciación y con eficiente respuesta frente a los agentes patógenos. Son células pequeñas con un borde irregular, tienen un núcleo grande con una cromatina muy agrupada (Fernández *et al.*, 2002). Se encuentran circulando por todo el cuerpo del animal a través de la sangre y la linfa, se encuentran agrupados en órganos linfoides (Fernández *et al.*, 2002).

Son responsables de la respuesta inmune específica de tipo humoral y celular, además tienen capacidad citolítica, memoria inmunológica y liberación de citosinas (Fernández *et al.*, 2002).

#### 2.5.3.1 Subpoblaciones linfoides

Los linfocitos T se localizan generalmente en el timo. Estas células representan el 70% de los linfocitos circulantes. Participan en la respuesta inmune humoral frente a los antígenos T-dependientes, son responsables de la respuesta celular así como la actividad citolítica (Fernández *et al.*, 2002).

Los linfocitos B se localizan principalmente en el bazo, riñón anterior y el timo, representan el 30% de linfocitos circulantes. Son los encargados de la producción de anticuerpos y la respuesta frente a antígenos T-dependientes y T-independientes (Fernández *et al.*, 2002).

### 2.5.4. Granulocitos

En peces teleósteos, se describen tres tipos de células por la coloración de los orgánulos en su citoplasma.

#### 2.5.4.1 Neutrófilos

Células con un núcleo excéntrico multilobulado (dos o tres lóbulos), con cromatina densa y agrupada. Se asemejan a los neutrófilos de mamíferos por su morfología y por sus características histoquímicas (Fernández *et al.*, 2002).

Los neutrófilos de los peces, al igual que sus análogos de mamíferos, tienen funciones fagocíticas, quimiotácticas y bactericidas, actividad mieloperoxidasa (MPO), explosión respiratoria y también poseen capacidad de degranulación de gránulos primarios (Hine, 1992; Fernández *et al.*, 2002; Palic *et al.* 2007).

Las funciones fagocíticas y bactericidas de los neutrófilos son reducidas en algunas especies de peces, y su participación en procesos agudos es muy inferior a la de mamíferos. (Ellis, 1981; Ferguson, 2006).

#### 2.5.4.2 Eosinófilos

Células redondas que tienen núcleo bilobulado y excéntrico con un citoplasma azul pálido con gránulos de forma alargada y esférica, que se tiñen con colorante ácido en medio alcalino. (Fernández *et al.*, 2002).

Los eosinófilos de los peces denominados eosinófilos granulares homogéneos (EGHs) o células granulares eosinofílicas (CGEs) se encuentran asociadas al tejido conectivo especialmente en el tracto gastrointestinal y las branquias, pero también en otros órganos como la piel, corazón y el sistema nervioso central incluido el nervio óptico (Noya y Lamas 1996; Ferguson, 2006). Su función no es clara, pero se encuentra fácilmente en procesos inflamatorios, en los cuales liberan su contenido granular, por lo que se han comparado con los mastocitos de mamíferos (Ferguson, 2006). Se movilizan vía sanguínea y llegan al peritoneo y otros tejidos en respuesta a infecciones bacterianas (Noya y Lamas, 1996)

#### 2.5.4.3 Basófilos

Son células con citoplasma basófilo que tienen grandes gránulos redondeados que ocultan al núcleo (Fernández *et al.* 2002).

#### 2.5.5 Monocitos

Son células blancas de gran tamaño con presencia de un citoplasma de color azul grisáceo y algunas veces vacuolado. El núcleo es grande y tiene una forma de redonda a



ovalada con una invaginación, ocupa un tercio del volumen total de la célula. El citoplasma es denso y casualmente presentan gránulos de melanina.

Los macrófagos, llamados así a los monocitos que se encuentran en los tejidos, constituyen la principal célula con capacidad de fagocitar y digerir a los agentes antígenicos, así como restos celulares producidos durante la respuesta inflamatoria u otros procesos degenerativos (Fernández *et al.* 2002).

Los macrófagos son presentadores de antígenos en la respuesta inmune adquirida y son los principales fagocitos de los peces (Blazer, 1991; Dalmo *et al.*, 1997), aparecen en los eventos tempranos de inflamación en enfermedades y tienen un papel importante en la patogénesis de algunas enfermedades. (Zlotkin *et al.*, 2002; Pulido *et al.*, 2004; Ewart *et al.*, 2008).

#### 2.5.6 Centros melanomacrofágicos

Agregados celulares que reciben el nombre de centros melanomacrofágicos porque se asemejan a los macrófagos, tienen alto contenido en melanina y tienden a agregarse. Se encuentran en los órganos linfoides de los peces teleósteos y se forman principalmente por la acumulación de células fagocíticas (Fernández *et al.* ,2002).

Una particularidad de la inmunidad de los peces, es la presencia principalmente en el bazo, riñón, hígado, gónadas, tiroides y timo de centros melanomacrofagos (CMMs) (Ferguson, 2006). Estos centros están conformados por macrófagos, células reticulares, linfocitos y células plasmáticas. Reciben esa denominación porque dentro de los macrófagos que conforman los CMMs se producen y almacenan pigmentos como la lipofuchina, la melanina y la hemosiderina entre otros (Dalmo *et al.*, 1997; Agius y Roberts, 2003; Ferguson, 2006). La función de los CMMs en una infección es especulativa, en infecciones por bacterias intracelulares resistentes a la fagocitosis como *Mycobacterias*, los CMMs aumentan en número (Agius y Roberts, 2003; Ferguson, 2006; Hernández *et al.*, 2008).

## 2.6 Principales órganos linfoides

Los peces al igual que todos los vertebrados tienen órganos con respuesta inmune con algunas particularidades (Tort *et al.*, 2003). La mayoría de los órganos primarios y secundarios presentes en mamíferos se encuentran también en los peces, excepto de la médula ósea y nódulos linfáticos. Debido a la ausencia de la médula ósea la hematopoyesis en los peces se realiza en el riñón anterior y bazo (Huttenhuis, 2005).

### 2.5.7.1 Timo

El timo es un órgano situado cerca de la cavidad opercular, produce linfocitos T encargados de estimular a la fagocitosis y la producción de inmunoglobulinas producidas por los linfocitos B (Tort *et al.*, 2003)

Se compone mayormente de células de tipo linfoide llamadas timocitos, también se pueden observar células mioides, células de tipo macrófagos y células granulares eosinofílicas. Algunas veces pueden encontrarse nidos focales epiteliales llamados corpúsculo de Hassal (Fernández *et al.*, 2002).

La involución del timo se da igual que en mamíferos cuando van alcanzando la madurez sexual debido a la degradación del tejido linfoide y agregación de tejido conectivo. (Fernández *et al.*, 2002).

### 2.5.7.2 Riñón anterior

El riñón se ubica en posición dorsal y se encuentra unido por tejido conectivo, considerado como órgano primario en la diferenciación de células B ya que en el desarrollo de los peces este es el primer órgano donde se pueden encontrar estos tipos de células (Fernández *et al.* 2002).

El riñón anterior no tiene función renal, además de la función hematopoyética y de repuesta inmune, esta porción tiene función endocrina; liberando corticosteroides y otras hormonas (Reimschuessel, 2001; Zwollo *et al.*, 2005).

La región anterior del riñón deriva de pronefros y tiene gran cantidad de tejido linfohematopoyético, es posible encontrar gran número de macrófagos, centros melanomacrofágicos y células linfoides (Fernández *et al.* 2002).

#### 2.5.7.3 Bazo

Órgano ubicado en la cavidad abdominal. Histológicamente se puede observar un sistema de elipsoides esplénicos (capilares que provienen de la división de las arteriolas esplénicas), centros melanomacrofágicos y tejido linfoide (Fernández *et al.* 2002).

#### 2.5.7.4 Tejido linfoide asociado a mucosas o intestino (MALT o GALT)

Se ha demostrado que en la piel, branquias y la mucosa intestinal hay presencia de linfocitos con una respuesta inmunitaria muy eficiente, si bien no son órganos linfoides como tal, son tejidos que cumplen funciones defensivas (Fernández *et al.* 2002).

## 2.6 ENFERMEDADES DE PECES ORNAMENTALES

Los organismos acuáticos como cualquier grupo de animales están expuestos a una amplia variedad de enfermedades (Chuquipiondo, 2014).

La presentación de la enfermedad en los peces se basa en un complejo formado por el pez, su ambiente y el patógeno, donde se involucra el estado susceptible del pez, la calidad del ambiente y la capacidad del patógeno (factores de virulencia) para causar alguna enfermedad (Francias- Floyd, 2009; Palmeiro, 2000). La enfermedad rara vez se va a desarrollar por el simple contacto del microbio y el hospedero (Parker, 2012).

Las enfermedades influyen de manera negativa en el crecimiento y desarrollo de los peces incluso llegando a provocar mortalidad. Los daños causados por las enfermedades van a provocar una reducción en el valor comercial de los peces. (Chuquipiondo, 2014)

En la crianza de peces siempre es difícil controlar las enfermedades ya que las condiciones del medio acuático donde habitan no siempre van a ser muy bien controladas

(Southgate, 2000), por lo tanto es obligatorio conocer el manejo adecuado del ambiente del pez (Oestmann, 1998).

La variación de los parámetros físico-químicos del ambiente acuático en cuanto a salinidad, temperatura, pH y otros factores como: el transporte, la nutrición, medicación y los agentes patógenos van a provocar stress en los peces, los cuales se verán afectados de manera negativa (Auro y Ocampo, 1999; Pasnik *et al.*, 2010)

El stress es la condición en la cual el animal es incapaz de mantener su estado fisiológico normal debido a varios factores a los que está expuesto fuera de los límites de su tolerancia, afectando su bienestar (Parker, 2012).

Dentro de las enfermedades que afectan a los peces los podemos dividir en dos aspectos importantes, las de origen no infeccioso que incluyen enfermedades nutricionales y las producidas por la mala calidad del medio acuático. En el otro grupo se incluyen las enfermedades infecciosas causadas por bacterias, virus, hongos, protozoarios, etc. (Roberts, 2011).

Las enfermedades bacterianas son responsables de grandes mortalidades en peces de cultivo, estos microorganismos pueden ser desde un patógeno primario hasta un invasor de alto grado de infestación (Chuquipiondo, 2014).

Las bacterias más frecuentemente aisladas en los peces ornamentales ya sean por brote de enfermedad, por procedimientos de rutina o estudios de investigación son: *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Mycobacterium* spp., *Flavobacterium* spp., *Vibrio* spp. y otras bacterias ocasionales o propias del medio acuático (Del Río- Rodríguez y Turnbull, 1999; Negrete *et al.*, 1999; Musa *et al.*, 2008; Tresierra-Ayala *et al.*, 2008).

## **2.6.1 ENFERMEDADES DE ORIGEN INFECCIOSO**

### **2.6.1.1 ENFERMEDADES BACTERIANAS**

#### **2.6.1.1.1 Enfermedad causada por *Flavobacterium spp.***

Todos los peces incluido los ornamentales son susceptibles a alguna forma de enfermedad causada por el género *Flavobacterium spp.*, estos microorganismos son considerados ubicuos en el medio ambiente acuático, ocasionando enfermedad en peces sometidos a algún tipo de estrés (Shotts y Starliper, 1999).

Un estudio microbiológico en el pez ornamental neón tetra (*Paracheiroduon axelrodi*) hecho por Palacios en 2014 determinó de un total de 39 aislados bacterianos, 8 fueron del género *Flavobacterium*.

#### **2.6.1.1.1.1 Características microbiológicas**

Esta bacteria es un bacilo gramnegativo, aeróbico, microaerofílico. Las colonias están usualmente pigmentadas (coloración amarilla a naranja), al inicio la colonia tiene una forma plana que luego en su propagación toma una forma convexa, dependiendo del respectivo medio de aislamiento. Son usualmente positivos a la reacción de oxidasa y se adhiere fuertemente al agar. (Shotts y Starliper, 1999; Tripathi *et al.*, 2003).

#### **2.6.1.1.1.2 Epidemiología**

Estos microorganismos están presentes en el ambiente acuático y se les encuentra en los aislamientos obtenidos de los brotes de enfermedad ya sea por stress o por algún factor ambiental. La enfermedad no aparece de forma repentina, sino que requiere alguna alteración en la calidad del ambiente y en el mismo pez ya que los peces saludables son resistentes a la enfermedad (Shotts y Starliper, 1999).

#### **2.6.1.1.1.3 Signos clínicos**

Son inespecíficos como letargia, inapetencia, nado cerca de la superficie del agua, movimiento opercular acelerado, lesiones en piel, branquias y aletas (Tripathi *et al.*, 2003).

Se puede observar un aumento en la cantidad de moco sobre la cabeza y la parte superior del cuerpo, el cual avanza a áreas circulares de crecimiento opaco, teniendo un tono limón amarillo tenue (Shotts y Starliper, 1999).

#### 2.6.1.1.1.4 Lesiones

En las branquias se puede observar una severa inflamación neutrofílica que avanza a una necrosis branquial. En las infecciones agudas, la hipoxia y la muerte pueden resultar como consecuencia del daño extensivo a las branquias. Sin embargo, las lesiones también pueden localizarse sobre la cabeza y en la parte craneodorsal del cuerpo. Las lesiones de la piel se propagan de la base de la aleta caudal como una banda pálida blanca que se extiende lateralmente y termina rodeando al cuerpo para formar una lesión característica de ensillado, a medida que la lesión progresa se desarrollan úlceras blanco amarillentas en el centro de esta lesión. En enfermedades avanzadas se desarrollan úlceras extensivas y profundas de la piel exponiendo el músculo subyacente y el hueso, los focos bacterianos se fijan a la piel lo que le da una apariencia externa de lana de algodón (Decostere *et al.*, 1998; Shotts y Starliper, 1999; Tripathi *et al.*, 2003).

#### 2.6.1.1.2 Enfermedad causada por *Staphylococcus spp.*

La enfermedad causada por esta bacteria en peces ornamentales ha sido poco estudiada, Este año (2015) en Brasil se aisló este género de bacteria en 5 especies de peces ornamentales: *Nannostomus eques*, *Paracheidoron axelrodi*, *Carnegiella strigata*, *Hemmigramus blegeri* y *Hyphessobrycon erythrostigma* (Carvalho *et al.*, 2015).

#### 2.6.1.1.2.1 Características microbiológicas

Colonias amarillas, cocos grampositivos, catalasa positiva, reducción del manitol es variable dependiendo de la especie, fermentativos, oxidasa negativa. (Austin y Austin, 2007).

#### 2.6.1.1.2.2 Epidemiología

A quedado demostrado que los *Staphylococcus sp.* patógenos de peces difieren antigénicamente de las cepas de origen humano, por lo tanto, se considera que el principal reservorio o fuente de infección debe ser el agua o los propios peces (Su Hsien y Quintanilla, 2008).

#### 2.6.1.1.2.3 Signos clínicos

Los peces afectados casi nunca muestran signos clínicos, en algunos casos se puede observar exoftalmia, ascitis, ulceraciones en la cola y natación girante en fondo o superficie de agua (Su Hsien y Quintanilla, 2008).

#### 2.6.1.1.2.4 Lesiones

Las lesiones producidas por este agente bacteriano aún no han sido estudiadas en peces ornamentales, pero en casos de peces de cultivo como tilapias se observa granulomas en los órganos internos. (Su Hsien y Quintanilla, 2008).

#### 2.6.1.1.3 Enfermedad causada por *Pseudomona spp.*

Es una enfermedad poco estudiada en peces ornamentales, sin embargo en el 2013 se identificaron 60 cepas bacterianas pertenecientes a la familia pseudomonadaceae (Negrete *et al.*, 2013).

Está asociada junto con otras agentes microbianos a la enfermedad llamada podredumbre de las aletas (El Acuarista, 2012)

##### 2.6.1.1.3.1 Características microbiológicas

Bacilos gramnegativo, uniformemente bacilar, oxidasa positiva, catalasa positiva, no fermenta la glucosa, no producen gas a partir de la glucosa, reducción de nitratos positiva. (Holt *et al.*, 1994).

#### 2.6.1.1.3.2 Epidemiología

Las enfermedades causadas por este agente bacteriano se asocian a estrés por factores, tales como bajas concentraciones de oxígeno disuelto en el agua, temperaturas elevadas, sobrepoblación de peces o mal manejo de los mismos (Austin y Austin, 2007).

#### 2.6.1.1.3.3 Signos clínicos

Los signos clínicos son poco visibles, se observa un ligero oscurecimiento de las aletas iniciándose siempre en la aleta caudal (El Acuarista, 2012)

#### 2.6.1.1.3.4 Lesiones

Puede iniciarse con edematización y necrosis de las aletas, la infección puede llegar a ser sistémica ocasionando hemorragias en el peritoneo y órganos internos (Aquanovel, 2013).

#### 2.6.1.1.4 Enfermedad causada por *Aeromonas* spp.

Todas las especies de agua dulce son susceptibles a este agente bacteriano, Causante de provocar la muerte en peces ornamentales y de manifestarse de varias formas tales como: aguda, hemorragia subaguda, ascítica subaguda y ulcerosa crónica (Carnevia, 2014)

##### 2.6.1.1.4.1 Características microbiológicas

Bacilos gramnegativo, uniformemente bacilar, oxidasa positiva, catalasa positiva, fermentan la glucosa, no requieren de sodio para su crecimiento (Holt *et al.*, 1994).

##### 2.6.1.1.4.2 Epidemiología

Se ha llegado a la conclusión de que este microorganismo se encuentra siempre en agua dulces y también en plantas acuáticas, peces e incluso en los huevos de peces, asociado a invertebrados como *Tetrahymena pyriformis* que son protozoos ciliados, de esta manera puede llegar fácilmente a ocasionar alguna infección en los peces. Algunos aislados han demostrado que tienen respuestas quimiotácticas a la mucosidad de peces de agua dulce (Austin y Austin, 2007).



#### 2.6.1.1.4.3 Signos clínicos

En el caso de la enfermedad sobreaguda no hay signos visibles, si la presentación es la hemorrágica se observa zonas enrojecidas en todo el cuerpo, si la enfermedad es la ascítica se observa exoftalmia, ascitis y escamas erizadas y si es la ulcerosa se notaran zonas de continuidad en el cuerpo (Carnevia, 2014)

#### 2.6.1.1.4.4 Lesiones

Dependiendo de la presentación de la enfermedad se observara hemorragias en el peritoneo y en órganos internos, líquido en peritoneo o necrosis epitelial (Carnevia, 2014)

#### 2.6.1.1.5 Enfermedad causada por *Lactobacillus* spp.

Existen pocos informes que citan *Lactobacillus* spp. como patógenos en peces y son muy pocos los estudios de estos agentes en peces de ornamento (Austin y Austin, 2007).

##### 2.6.1.1.5.1 Características microbiológicas

Bacilos grampositivos filamentosos, no forman esporas, oxidasa negativa, catalasa negativa, no producen ácido sulfhídrico, no reducen nitratos (Holt *et al.*, 1994).

##### 2.6.1.1.5.2 Epidemiología

Aún no está claro si los peces son huéspedes naturales de los lactobacilus, o si son parte de la microflora natural acuática y si es por alguna de estas formas la que llega a provocar alguna infección (Austin y Austin, 2007).

##### 2.6.1.1.5.3 Signos clínicos

Los signos clínicos son inespecíficos, presentan letargia, inapetencia (Austin y Austin, 2007).

#### 2.6.1.1.5.4 Lesiones

En peces muertos y moribundos se encuentran hallazgos, tales como: en los ojos, una intensa hemorragia periocular; en el riñón, un gran número de túbulos renales con degeneración de gota hialina y el epitelio de algunos de estos túbulos era necrótico y vacuolado; intestino, necrosis del epitelio mucoso; hígado, congestión en los sinusoides y líquido en cavidad abdominal (Austin y Austin, 2007).

#### 2.6.1.1.6 Enfermedad causada por Enterobacterias

##### 2.6.1.1.6.1 Enfermedad causada por *Edwardsiella* spp.

##### 2.6.1.1.6.1.1 Características microbiológicas

Es un bacilo gramnegativo, móvil. Es anaerobio facultativo, negativo a la reacción oxidasa y positivo a la reacción de catalasa, positivo a la reacción de indol, fuerte productor de ácido sulfhídrico y con resultado negativo a la prueba de la ureasa (Holt *et al.*, 1994).

Las edwardsiellas son bacterias que han sido aisladas en la mayoría de los continentes afectando una gran variedad de peces ya sean ornamentales o de consumo bajo condiciones naturales de enfermedad o por experimentación. (Srinivasa Rao *et al.* 2004; Choresca *et al.* 2011).

Este agente es importante desde el punto de vista de la salud pública ya que es conocido que causa enfermedades en reptiles, pájaros, humanos y otros mamíferos (Mohanty y Sahoo ,2007). Es una bacteria oportunista que aparece ante cualquier alteración del ambiente y también por la susceptibilidad del pez por las condiciones estresantes de crianza (Plumb, 1999).

Vandepitte *et al.* (1983) documentaron un caso de Edwardsielosis en un niño de 2.5 años de edad con sintomatología constante de diarrea que solo cedió ante la antibioterapia en cuya casa tenían un acuario con peces de la especie *Pterophilum scalare* del que se pudo aislar también la misma bacteria, lo que confirma la transmisión zoonótica de la enfermedad.

#### 2.6.1.1.6.1.2 Signos clínicos

Los peces afectados manifiestan movimientos de espiral errático, están separados de los otros peces, dejan de comer y por lo general son aislados o sacrificados ante la presencia de estos signos para no afectar al resto de peces (Mohanty y Sahoo ,2007).

#### 2.6.1.1.6.1.3 Lesiones

También se puede ver erosiones o úlceras en la piel, branquias pálidas, tumefacción del ojo y sangrado. Sin embargo, estas lesiones no ayudan mucho al diagnóstico inicial puesto que son similares a las infecciones causadas por otras bacterias y que son conocidas como septicemia bacteriana hemorrágica (Mohanty y Sahoo ,2007).

#### 2.6.1.1.7 Enfermedad causada por *Bacillus* spp.

Son pocos los casos que este agente causa enfermedad en peces (Austin y Austin, 2007), no existen estudios de este agente bacteriano como causante de alguna enfermedad en peces ornamentales.

##### 2.6.1.1.7.1 Características microbiológicas

Son bacilos grampositivos, esporulan, no son anaerobios estrictos, oxidasa negativo y catalasa positivo (Holt *et al.*, 1994).

##### 2.6.1.1.7.2 Epidemiología

La presencia de *Bacillus* spp es frecuente en una gran variedad de ambientes naturales como el agua (Austin y Austin, 2007) y al ser los ríos el hábitat de muchos peces ornamentales, están propensos a ser colonizados por este microorganismo.

##### 2.6.1.1.7.3 Signos clínicos

Se ha observado que algunos peces muestran inapetencia, letargia, emaciación y dermatitis necrotizante generalizada (Austin y Austin, 2007).

#### 2.6.1.1.7.4 Lesiones

En el hígado y riñón se observan petequias y focos de necrosis; el bazo muestra esplenomegalia y con respecto al estómago se le puede observar hiperémico (Austin y Austin, 2007).

#### 2.6.1.1.8 Enfermedad causada por *Plesiomona* spp.

Aún no está claro si pueden ser patógenos en los peces, pero ha sido aislado de peces ornamentales como el gourami (*Osphyrionemus gourami*) (Austin y Austin, 2007).

##### 2.6.1.1.8.1 Características microbiológicas

Bacteria gramnegativa, oxidasa y catalasa positiva, lactosa positiva, fermentadores de glucosa, reacción de indol positiva (Holt *et al.*, 1994).

##### 2.6.1.1.8.2 Epidemiología

Se ha observado que las plesiomonas pueden residir en el tracto gastrointestinal de los peces de agua caliente, desde donde podrían servir como un reservorio de infección (Austin y Austin, 2007).

##### 2.6.1.1.8.3 Signos clínicos

Inapetencia, emaciación, ascitis y enrojecimiento del ano (Austin y Austin, 2007).

##### 2.6.1.1.8.4 Lesiones

Hemorragias petequiales en la pared muscular interna (Austin y Austin, 2007).

#### 2.6.1.1.9 Enfermedad causada por *Mycobacterium* spp.

Es una enfermedad granulomatosa sistémica y crónica que recibe el nombre de micobacteriosis (CFSPH, 2007).

Todas las especies de peces (agua dulce, agua salobre y agua salada) son susceptibles a la micobacteriosis y se ha descrito en una gran variedad de peces de acuario. Los brotes son más frecuentes en peces de acuario tropicales como miembros de la familia de los bettas y gouramis, de los tetras y las pirañas (CFSPH, 2007).

#### 2.6.1.1.9.1 Características microbiológicas

Bacilos grampositivos, no motiles, no esporulan, son ácido resistentes (Holt *et al.*, 1994).

#### 2.6.1.1.9.2 Epidemiología

Una investigación encontró que más del 67% de los especímenes acuáticos recogidos de fuentes naturales, tratadas y de contacto animal, contenían micobacterias (CFSPH, 2007).

La fuente de la infección de los *Mycobacterium* son fuentes de agua contaminada. En los peces, la transmisión puede ocurrir por consumo de alimento contaminado, canibalismo de peces o detritus acuático infectados o puede ingresar a través de heridas, excoiaciones cutáneas o parásitos externos. En los peces vivíparos, también se ha registrado transmisión transovárica. Los caracoles y otros invertebrados han demostrado desempeñar un rol importante en la transmisión de este microorganismo (CFSPH, 2007).

En los humanos, las lesiones cutáneas sirven como punto de ingreso para el organismo durante el contacto con fuentes de agua contaminada o peces infectados. Ello es más común durante la limpieza o mantenimiento de los acuarios (CFSPH, 2007).

#### 2.6.1.1.9.3 Signos clínicos

Hay cambios en el comportamiento como depresión, letargia, anorexia, nado errático y cambios físicos: exoftalmia, erosiones en piel, petequias, distensión abdominal, escamas levantadas (Verján *et al.*, 2002).

#### 2.6.1.1.9.4 Lesiones

Granulomas en órganos internos como: hígado, peritoneo, riñón, bazo y submucosa del tracto gastrointestinal, necrosis en hepatocitos y túbulos renales, degeneración hialina de fibras musculares y degeneración hidrópica en túbulos renales (Verján *et al.*, 2002).

#### 2.6.1.2 ENFERMEDADES PARASITARIAS

##### 2.6.1.2.1 Enfermedad causada por mixosporidios

Los mixosporidios son parásitos del phylum Myxozoa, clase Myxosporea y orden Bivalvulida, sus hospederos son invertebrados y vertebrados poiquiloterms, la gran mayoría infecta a los peces (Martins *et al.*, 1999; Noga, 2000; Azevedo y Matos, 2003; Barassa *et al.*, 2003) y algunos cuantos a reptiles y anfibios (Feist y Longshaw, 2000; Eiras *et al.*, 2005). Pocas son las especies de mixosporidios causantes de síntomas graves, sin embargo existen algunos otros que son severos patógenos de teleósteos y que llegar a causar grandes impactos económicos y ecológicos en poblaciones de peces de Europa y EE.UU. (Kallert, 2006). Los géneros de *Henneguya* y *Myxobolus* son dos de los más importantes patógenos en peces marinos y de agua dulce (Azevedo y Matos, 2003; Eiras *et al.*, 2005). En América del Sur, *Henneguya* es el patógeno más común, con 31 especies (Barassa *et al.*, 2003).

En los Myxosporea sus mixoesporas usualmente miden 10-25  $\mu\text{m}$ , y 300  $\mu\text{m}$  las actinoesporas presentando una gran variedad de formas y diversidad morfológica (Kallert, 2006). Una de las más importantes características de los Myxosporea es que, excepto durante la autogamia (reproducción sexual), todos sus estadios son formas multinucleadas que tienen células envoltantes (primarias) que contienen células envueltas (secundarias) (Noga, 2000).

El ciclo de vida de los Myxosporea sucede en dos hospederos, existiendo dos fases: mixospora y actinospora, en la primera se realiza la multiplicación del parásito, y se desarrolla en vertebrados menores como los peces; la segunda es un proceso sexual, y se desarrolla en invertebrados como los anélidos (Wolf y Markiw, 1984).

Las actinosporas son liberadas de los anélidos e ingresan al pez por la piel o por el epitelio branquial, las capsulas polares descargan sus filamentos polares, fijándola al hospedero. Después de esto las válvulas se abren, y el esporoplasma ingresa a través de aberturas en células epidermales y del epitelio. Posteriormente, siguen las fases intracelulares o intercelulares previas a la esporogonia, para migrar luego al lugar de desarrollo de la fase de esporogonia (quiste o plasmodium), el cual contienen núcleos vegetativos, células esporogónicas y pericitos; siendo estas dos últimas responsables de la esporogonia, dividiéndose y formando las diversas estructuras de la espora madura. El pericito en unión con las células esporogónicas son llamados panesporoblastos. Los estadios plasmodiales pueden ser formas histozoicas (ubicados en los espacios intercelulares, vasos sanguíneos o intracelularmente) y formas celozoicas (ubicadas en cavidades orgánicas). Las mixosporas contienen generalmente de una a cuatro capsulas polares, uno o dos esporoplasmas y un armazón con dos a tres válvulas. (Noga, 2000; Dyková y Lom, 2006). Se cree que las mixoesporas son liberadas cuando el pez muere, siendo ingeridas por invertebrados tales como los anélidos y de esta manera se arma el ciclo biológico. En los anélidos se realiza la fase sexual, el esporoplasma de la mixospora inicia una merogonia, gametogonia y esporogonia, para finalmente formar las actinoesporas (Kallert, 2006; Dyková y Lom, 2006).

#### 2.6.1.2.2 Enfermedad causada por Microsporidios

Los microsporidios pertenecen a la orden Microsporidia. No son tan comunes como los mixosporidios, pero son responsables de diversas enfermedades serias en los peces de cultivo. Generalmente son específicos, es decir infectan solo a una especie o a un grupo estrechamente relacionado, sin embargo algunas especies como por ejemplo, *Pleistophora hyphessobryconis*, *Glugea stephani* pueden infectar a un rango amplio de peces (Noga, 2000).

Todos los microsporidios son parásitos intracelulares, tienen un ciclo de vida directo. Poseen una espora de pared gruesa que contiene un esporoplasma. Cuando un pez ingiere la espora, el esporoplasma se descarga a través del canal de un filamento polar tubular que se almacena en espiral dentro de la espora. El esporoplasma luego migra al órgano diana y se

inicia una fase proliferativa (merogonia), produciéndose un gran número de células (merontes) por fisión binaria. En las etapas finales de desarrollo, los merontes dan lugar al esporonte, produciéndose esporas maduras. Las esporas maduras pueden liberarse desde zonas lesionadas en la superficie del cuerpo o después de la muerte del pez (Noga, 2000).

## 2.6.2 ENFERMEDADES DE ORIGEN NO INFECCIOSO

### 2.6.2.1 Enfermedad causada por la calidad del agua

#### 2.6.2.1.1 El Amoníaco

Es el producto final del catabolismo de las proteínas de los organismos acuáticos y es un contaminante común en los sistemas acuáticos llegando a ser tóxico para los peces en su forma no ionizada, especialmente en temperaturas altas y pH altos, teniendo consecuencias negativas para el desarrollo y sobrevivencia de los peces (Ismiño y Araujo, 2002).

#### 2.6.1.1.2 Oxígeno Disuelto

Es el factor de calidad de agua más crítico ya que si los niveles de concentración de oxígenos son bajos, los peces rápidamente se ven afectados, no comen y aun cuando el nivel se recupera el comportamiento de los peces sigue siendo el mismo por algún tiempo más, haciendo a los peces susceptibles a cualquier enfermedad (Francis, 2003).

#### 2.6.1.1.3 pH

No existe un rango exacto para un pH óptimo para la crianza de peces, pero un pH entre 5 -9 no es tóxico para la mayoría de peces, valores de pH debajo de este rango causan: retardo en el crecimiento, mortalidad y problemas en su reproducción y si el pH sube demasiado producir alcalosis o inducir a stress en los peces (El Acuarista, 2012).

### 2.6.1.2 Enfermedad causada por factores nutricionales

En cultivo de peces las especies son alimentadas con dietas artificiales y estas pueden ocasionar un desequilibrio en los nutrientes o poseer factores contaminantes y tóxicos (Corral et al., 2000).



El exceso de lípidos provoca acumulación de grasa en el hígado, riñón y bazo, tumefacción, degeneración y coloración amarillenta del hígado, anemia, estenosis intestinal y pérdida de peso. En casos que haya una carencia de lípidos se observa una detención del crecimiento, necrosis de las aletas, despigmentación y edema cutáneo, degeneración hepática y renal, anemia y alteración en la natación (Corral et al., 2000). Un exceso de proteínas produce un aumento del gasto energético para la excreción de nitrógeno, lo que conlleva a una merma del crecimiento, mientras que las deficiencias producen una baja en el sistema inmunitario y pérdida del crecimiento. Un exceso de carbohidratos ocasiona un incremento del glucógeno hepático; ocasionando degeneración hepática y pancreocítica, infiltración grasa en el riñón, retraso del crecimiento, en casos de deficiencia de carbohidratos lo que ocurre es una reducción del crecimiento (Cowey y Roberts, 1981; Corral *et al.*, 2000).

La deficiencia de vitamina C ocasiona en peces retardo en el crecimiento, falta de apetito, alteraciones en la columna espinal, anemia y letargia, la carencia de ácido fólico ocasiona anemia eritrocítica y la deficiencia de vitamina A ocasiona retardo del crecimiento, ceguera, hemorragia en las aletas (Cowey y Roberts, 1981).

#### 2.6.1.3 Enfermedad causada por neoplasias

Los procesos neoplásicos son de evolución benigna o maligna, siendo menos frecuentes en condiciones controladas que en poblaciones silvestres, entre las neoplasias benignas se encuentran los fibromas, osteomas y lipomas; entre las de carácter maligno con mayor frecuencia son los adenocarcinomas. Las causas son difíciles de establecer ya que pueden deberse a orígenes genéticos, respuestas secundarias a enfermedades, factores dietéticos o por manipulación inadecuada (Corral *et al.*, 2000).

### 2.7 ESTADO SANITARIO DE LOS PECES ORNAMENTALES EN EL PAIS

En la actualidad no existe una norma general que asegure la calidad de los peces ornamentales, todos los procesos que involucran esta producción se realizan en forma empírica sin tener mucho conocimiento del manejo, transporte adecuado de los peces, esta actividad a gran escala siempre implica un transporte largo, lo cual produce un gran estrés

para los peces y sumado a una mala condición de su medio ambiente temporal puede desencadenar en una alta mortalidad y pérdida del lote a entregar (Hignette, 2003; Ploeg, 2007).

En países desarrollados existen protocolos de prevención y sanidad que se refieren exclusivamente a peces de ornamento como posibles factores de riesgo para la dispersión de enfermedades exóticas ya que son países que tienen una gran importación de este tipo de peces (Stephens *et al*, 2010)

El Instituto Tecnológico Pesquero (ITP) a través del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera (SANIPES) es la autoridad competente en tema sanitario, encargado de velar por la calidad de los productos pesqueros derivados de la pesca, actividades acuícolas y acuicultura. Además, es el organismo encargado de emitir los certificados sanitarios correspondientes para la exportación de los peces ornamentales, previo control e inspección de los mismos sujetándose a la normas internacionales sanitarias. (ITP - SANIPES, 2013).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de Estudio**

El estudio microbiológico e histopatológico se realizó en el Laboratorio de la Histología, Embriología y Patología Veterinaria – Sección Ictiopatología, de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Este estudio se desarrolló utilizando muestras de peces Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) o llamado también “tetra corazón sangrante”, provenientes del río Nanay del departamento de Loreto.

#### **3.2. Material Experimental**

##### **3.2.1 Tamaño muestral**

Se seleccionaron 120 peces de la especie Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*), la mitad de los individuos (60 peces) para realizar el estudio microbiológico y los otros restantes (60 peces) para el estudio histopatológico, debido al tamaño de los peces (longitud de 6 cm) y de sus órganos (bazo 2 mm de diámetro, riñón 3 mm de ancho y 2 cm de largo aproximadamente, el bazo es raspado completamente con el ansa para el estudio microbiológico), lo que hace difícil evaluar los mismos tejidos para el estudio microbiológico e histopatológico en el mismo individuo.

Se seleccionaron 120 peces de la especie Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*), la mitad de los individuos (60 peces) para realizar el estudio microbiológico y los otros restantes (60 peces) para el estudio histopatológico, debido al tamaño de los peces (longitud de 6 cm) y de sus órganos (bazo 2 mm de diámetro, riñón 3 mm de ancho y 2 cm de largo aproximadamente, el bazo es raspado completamente con el ansa para el estudio microbiológico). El tamaño de muestra se basó en la frecuencia casos esperados de un 50%, como escenario conservador, un nivel de confianza del 95%, un error aceptado del 10%. (Bland y Altman, 1986)

### **3.2 Metodología**

#### **3.2.1 Toma de muestra**

Los peces procedentes de Iquitos fueron transportados a la facultad de Medicina Veterinaria, los cuales fueron mantenidos en acuarios hasta el momento de realizar la necropsia. Se consideró que los peces no pueden ser puestos directamente al agua de los nuevos acuarios ya que hay diferencias en cuanto a temperatura, oxígeno disuelto en el agua que puede provocar la muerte en los animales por lo que es necesario mantenerlos en el nuevo acuario con la misma agua que fueron transportados y poco a poco ir adicionándole la nueva agua así el cambio de su hábitat es gradual, este protocolo se usa en peces que son transportados a nuevos acuarios (Palacios, 2014)

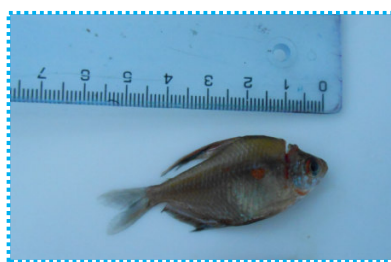
Los peces fueron mantenidos 24 horas en estos nuevos acuarios (hasta realizar el proceso experimental, se seleccionó al azar los 120 peces que fueron llevados hasta el área de necropsia en recipientes que contenían la misma agua del acuario donde se encontraban.

#### **3.2.2 Necropsia**

Antes de sacrificar a los peces se procedió a la anestesia de los mismos, adicionándole al agua donde se encontraban benzocaína 1g cada 20 litros (Ross y Ross, 2008) por 10 a 15 segundos. Luego se procedió al examen externo para observar si presentaban lesiones o parásitos, seguidamente se desinfectó la superficie del pez con alcohol al 70%. La técnica de sacrificio fue mediante el corte medular con hoja de bisturí entre el cerebro y la medula

espinal (Figura 5a) (Roberts y Sheperd, 1980; Rosental, 2007), después de ello se procedió a la necropsia (Figura 5b) según las técnicas de rutina (Reimschuessel *et al.*, 1988), luego se realizó el estudio microbiológico o histopatológico según sea el caso.

***Figuras 5. Corte medular entre el cerebro y la medula espinal. Necropsia del Pez.***



(a)



(b)

### 3.2.3 Estudio microbiológico

A los 60 peces muertos, con ayuda de una lupa, se les realizó una pequeña punción en los órganos de riñón y bazo, son órganos linfoides comúnmente usados para detección de enfermedades en peces (FAO, 1987), utilizando un ansa estéril de punta para el aislamiento de las bacterias. Las muestras fueron sembradas en medio Trypticase Soya Agar (TSA) a 30°C por 24 horas, Agar Cytophaga a 30 °C por 96 horas, agar específico el aislamiento de bacterias del género *Flavobacterium* sp, Agar GSP a 30 °C por 96 horas, agar específico para el aislamiento de *Aeromonas* sp. y *Pseudomonas* sp., y Agar MacConkey a 30°C por 24 horas para el crecimiento de bacterias gramnegativas, según lo establecido por Orvay.

Los primeros aislados obtenidos fueron conservados en refrigeración (4 °C) hasta esperar el crecimiento de todas las muestras (60 peces), posteriormente se realizó la caracterización del cultivo de cada colonia además de la coloración Gram (Anexo N°1), y pruebas bioquímicas para identificar al género bacteriano: oxidasa, catalasa, Medio LIA, Agar Simmons Citrato, Medio TSI, Rojo de Metilo – Vogues Proskauer, y Medio SIM, para detectar indol en este medio se agrega el reactivo de Kovacs, Prueba de oxido-reducción (Anexo N°2).

Los medios para las pruebas bioquímicas fueron preparados en el laboratorio. Se realizó dos lecturas, una a las 24 horas y otra a 48 horas. Luego, se realizó la interpretación de los resultados obtenidos de cada colonia aislada, de acuerdo a lo descrito por Buller (2004).

#### 3.3.4 Estudio histopatológico

Los 60 peces restantes fueron utilizados para el estudio de tejidos en búsqueda de los posibles agentes infecciosos y las distintas lesiones. Los peces ya sacrificados como en el caso anterior, se les seccionaron la cola, cabeza y aletas quedando de una forma rectangular todo el cuerpo del pez, para ser colocado junto con el ojo y correctamente rotulado en un frasco con formol bufferado al 10% hasta su posterior procesamiento (Anexo N°3). Se realizó la tinción convencional de Hematoxilina y Eosina (H&E) a todas las muestras; y las tinciones Gram y Ziehl-Neelsen solo a las muestras que presentaban granulomas y eran sospechosos de ser causados por *Mycobacterium* sp. Las láminas obtenidas fueron observadas con un microscopio óptico de luz con aumentos de 10X, 40X, 100X y se determinó e interpretó las lesiones histopatológicas en la Sección de Ictiopatología del Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria de la FMV- UNMSM.

Las lesiones histopatológicas encontradas fueron clasificadas para cada órgano en 5 secciones como: trastornos inflamatorios, circulatorios, del crecimiento, degenerativos y parasitarios, propuestos por Reimshuessel *et al.* 1992. Estas lesiones fueron clasificadas de acuerdo al grado de afección por su extensión en el tejido evaluado, presentándose en una escala de grados que va de 1-4, con la finalidad de hacer una evaluación más objetiva. Los parámetros tomados en cuenta figuran en el Cuadro 3.

**Cuadro 3. Clasificación de la lesión según el grado de afección por su extensión.**

Grado	Extensión
I (Escaso)	Escasa presencia de lesión, hasta un 25% aproximadamente en toda la muestra estudiada
II (Leve)	Presencia de lesión en más del 25% pero menor del 50% de toda la muestra en estudio
III (Moderado)	Lesiones encontradas en más del 50% pero menores a un 75% de la muestra estudiada
IV (severo)	Afección en más del 75% y llegando incluso al 100% de la muestra en estudio.

Fuente: Reimschuessel *et al.*, 1992.

Para el caso del hígado se utilizó este cuadro para categorizar la degeneración grasa. (Cuadro 4)

**Cuadro 4. Clasificación de la Degeneración Grasa de acuerdo a la severidad y extensión de la lesión.**

Grado	Severidad	Extensión
I (Escaso)	Escasa presencia de microvacuolas intracitoplasmáticas.	Multifocal 25% aproximadamente de toda la muestra
II (Leve)	Leve presencia de micro y/o macrovacuolas intracitoplasmáticas.	Multifocal Mayor al 25% hasta aproximadamente 50% de toda la muestra
III (Moderado)	Moderada presencia de macro y microvacuolas intracitoplasmáticas.	Difuso Mayor al 50% hasta aproximadamente 75% de toda la muestra
IV (Severo)	Severa presencia de macrovacuolas intracitoplasmáticas.	Difuso Mayor al 75% hasta aproximadamente 100% de toda la muestra

Fuente: Reimschuessel *et al.*, 1992 modificado por Rosenthal, 2007.



Los resultados para ambos estudios (microbiológico e histopatológico) fueron presentados con el análisis de frecuencia, indicando el porcentaje de cada variable con respecto al total de población analizada para cada estudio y se graficó estos resultados obtenidos en tablas de porcentajes.

La frecuencia fue determinada mediante la fórmula:

$$f = \frac{\text{n}^\circ \text{ de Animales con X}}{\text{n}^\circ \text{ total de animales}} \times 100\%$$

Donde (x) representa: Género bacteriano aislado, lesión histopatológica determinada.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Microbiológicos

A partir de las muestras de los dos órganos (bazo y riñón) analizados se obtuvieron un total de 59 agentes bacterianos aislados que crecieron en Agar TSA, Agar Cytophaga, Agar GSP y Agar MacConkey a una temperatura de 28°C por 24 hrs (TSA y MacConkey) y 96 hrs. (Cytophaga y GSP).

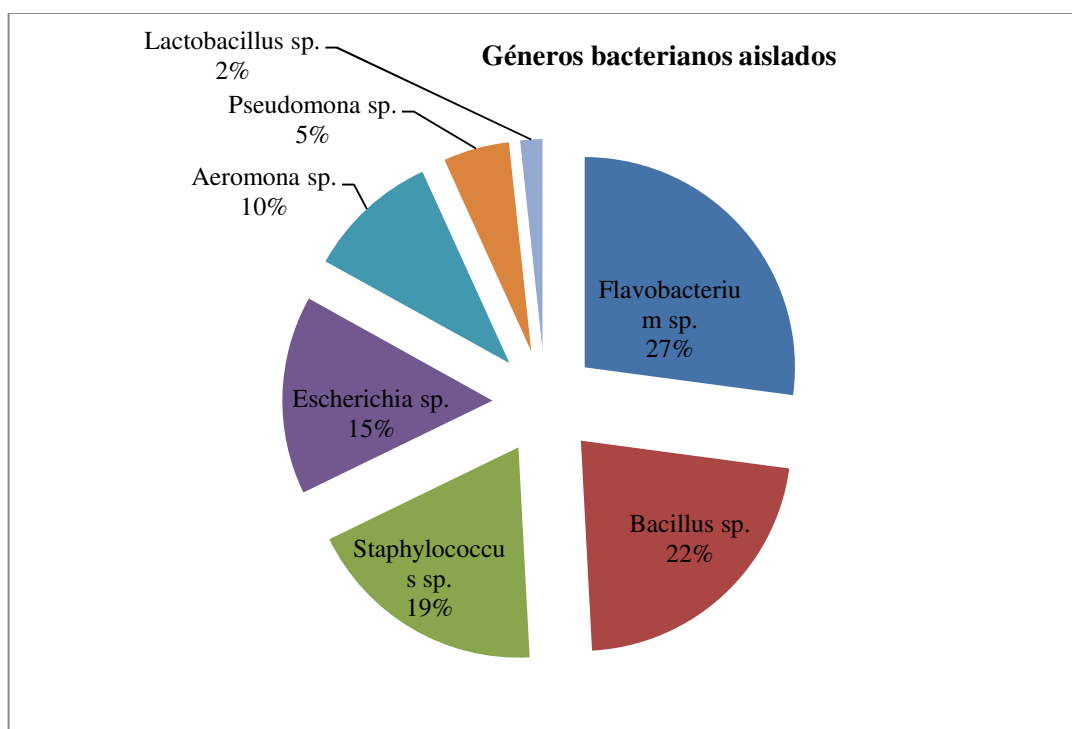
La identificación bacteriana fue usando el diagrama de identificación propuesto por Orvay así como el del manual de determinación bacteriológica de Bergey's.

Se logró identificar 8 géneros bacterianos según: *Pseudomona* sp. (5%), *Aeromona* sp. (10%), *Bacillus* sp. (21.6%), *Staphylococcus* sp. (18.3%), *Lactobacillus* sp. (1.7%), *Flavobacterium* sp. (26.7%) y *Escherichia* sp. (15%) a partir de los aislados obtenidos de los órganos seleccionados para el estudio del pez ornamental Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*).

Específicamente en caso del riñón se identificaron 7 géneros bacterianos (Figura 6): *Pseudomona* sp. (5.4%), *Flavobacterium* sp. (29.7%), *Aeromonas* sp. (13.5%), *Staphylococcus* sp. (16.2%), *Lactobacillus* sp. (2.7%), *Bacillus* sp. (24.3%) y *Escherichia* sp. (8.1%) y en caso del bazo: 7 géneros bacterianos *Pseudomona* sp. (4.5%),

*Flavobacterium* sp. (22.7%), *Aeromonas* sp. (4.5%), *Staphylococcus* sp. (22.7%), *Bacillus* sp. (18.2%), y *Escherichia* sp. (27.3%).

**Figura 6. Géneros bacterianos aislados.**



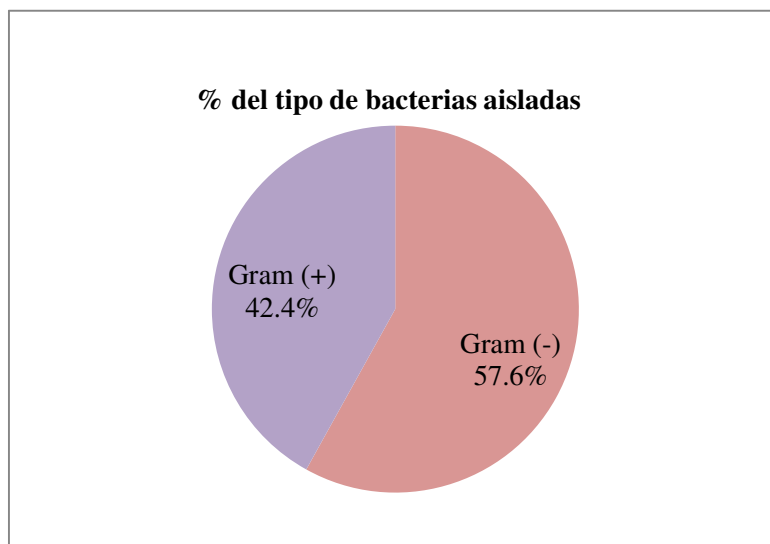
Con respecto a la frecuencia de los géneros bacterianos, se encontró un 37.2% (22/59) de los aislados de bazo y un 62.8% (37/59) de los aislados de riñón (Cuadro 5). Según el tipo de las bacterias, se encontró 57.6% (34/59) de bacterias gramnegativas y 42.4% (25/59) de bacterias grampositivas (Cuadro 6).

**Cuadro 5. Frecuencia de los géneros bacterianos aislados del bazo y el riñón.**

Bacterias aisladas	Aislados totales	%	Aislados del bazo	%	Aislados del riñón	%
<i>Flavobacterium</i> sp.	16	27.1	5	22.7	11	29.7
<i>Bacillus</i> sp.	13	22	4	18.3	9	24.4
<i>Staphylococcus</i> sp.	11	18.6	5	22.7	6	16.3
<i>Escherichia</i> sp.	9	15.3	6	27.3	3	8.1
<i>Aeromonas</i> sp.	6	10.2	1	4.5	5	13.5
<i>Pseudomonas</i> sp.	3	5.1	1	4.5	2	5.4
<i>Lactobacillus</i> sp.	1	1.7	0	0	1	2.7
Total	59	100	22	100	37	100

De los 59 agentes bacterianos aislados, 57.6% fueron bacterias gramnegativas y 42.4% bacterias grampositivas (Figura 7), en el bazo el 59.1% fueron gramnegativas y 40.9% grampositivas, en caso del riñón las gramnegativas representaron un 56.8% y las grampositivas un 43.2%.

**Figura 7. Porcentaje del tipo de bacterias aisladas.**



**Cuadro 6. Frecuencia del tipo de bacteria aislado.**

Bacterias aisladas	Aislados totales	%	Aislados del bazo	%	Aislados del riñón	%
Gramnegativas	34	57.6	14	59.1	21	56.8
Grampositivas	25	42.4	9	40.9	16	43.2
Totales	59	100	23	100	37	100

## 4.2 Histopatológicos

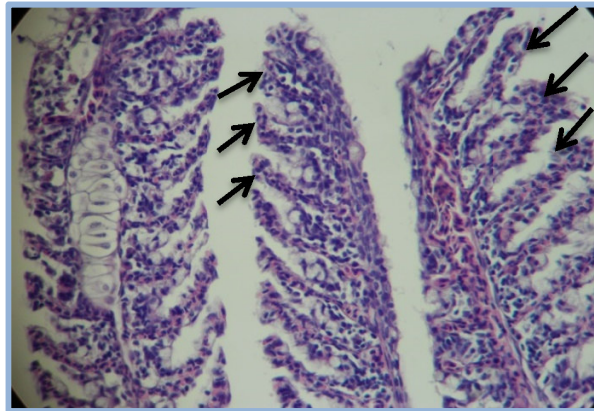
En los ojos no se encontró ningún hallazgo histopatológico.

Con respecto al órgano respiratorio en peces se observó que el 100% (60/60) de las muestras presentaron hiperplasia del epitelio lamelar (Figura 8), fusión de lamelas secundarias (Figura 9) y esporas de *Mixosporidium* sp. (Figura 10), otro hallazgo importante fue la infiltración de células inflamatorias en más de la mitad de las muestras 63.3% (38/60) (Figura 11), también se observó atrofia de los filamentos (Figura 12) y edema perilamelar (Figura 13) (Cuadro7).

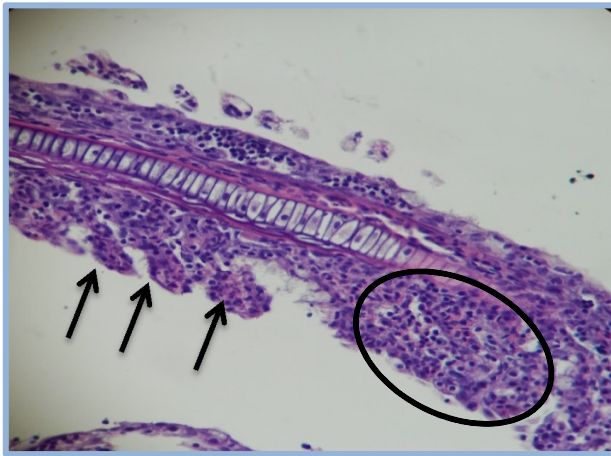
**Cuadro 7. Frecuencia de alteraciones histológicas de las branquias según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos-Perú.**

TIPO DE TRASTORNOS	GRADO DE AFECCIÓN					ALTERACIÓN	
	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (n/n)	%
<b>DEL CRECIMIENTO</b>							
Hiperplasia del epitelio lamelar	0	0	29	31	0	60/60	100
Fusión de lamelas	0	0	28	28	0	60/60	100
Atrofia de los filamentos	53	0	4	3	0	7/60	11.6
<b>PARASITARIOS</b>							
Esporas de <i>Mixosporidium</i> sp.	0	0	27	33	0	60/60	100
<b>CIRCULATORIOS</b>							
Edema perilamelar	27	4	19	10	0	33/60	55
Congestión Lamelar	43	0	13	4	0	17/60	28.3
<b>INFLAMATORIOS</b>							
Infiltración de células inflamatorias	22	2	24	12	0	38/60	63.3

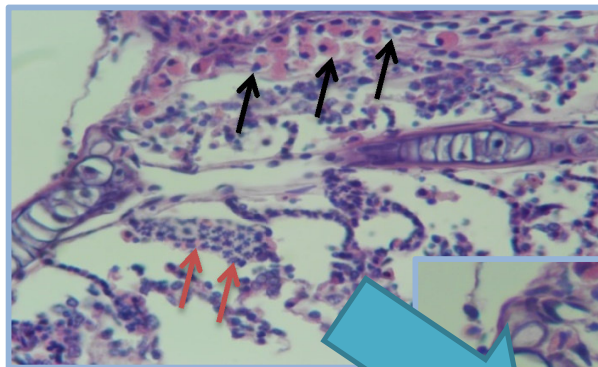
*Figura 8. Hiperplasia de lamelas (flechas). H&E 400X.*



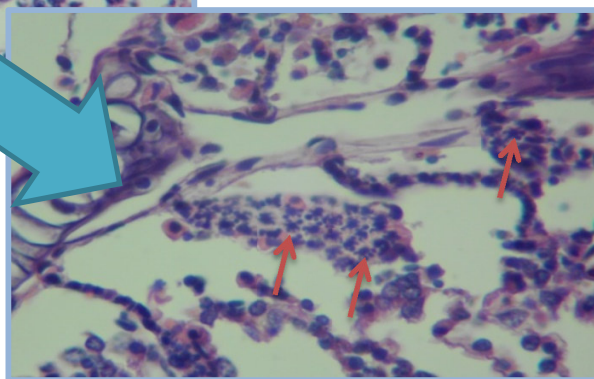
*Figura 9. Hiperplasia de lamelas (flechas) y Fusión de Lamelas (circulo). H&E 400X.*



*Figura 10. Esporas de Mixosporidium sp. (flechas rojas) e infiltración de células inflamatorias (flechas negras). H&E (a) Vista de 100X y (b) vista de 400X.*

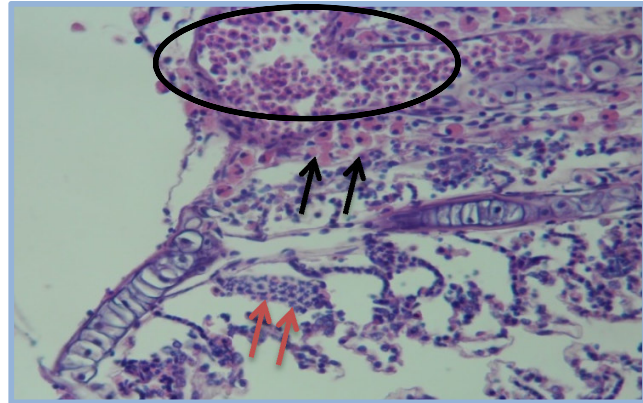


(a)

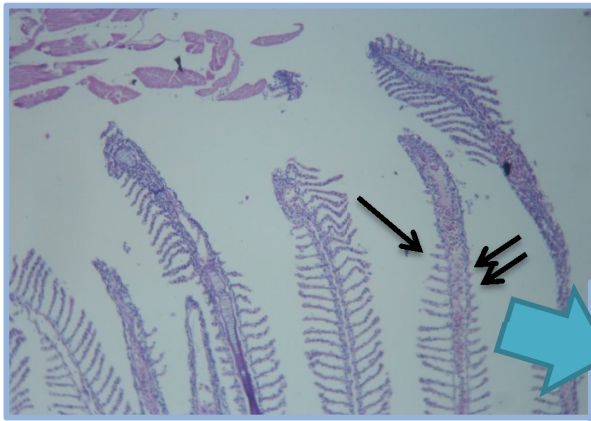


(b)

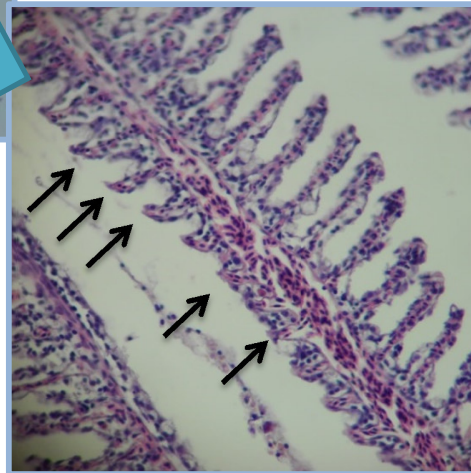
*Figura 11. Esporas de Mixosporidium sp. (flechas rojas), congestión lamelar (círculo) e infiltración de células inflamatorias (flechas negras). H&E*



*Figura 12. Atrofia de los filamentos branquiales (flechas). H&E (a) Vista a 100X. v (b) Vista a 400X.*



(a)



(b)



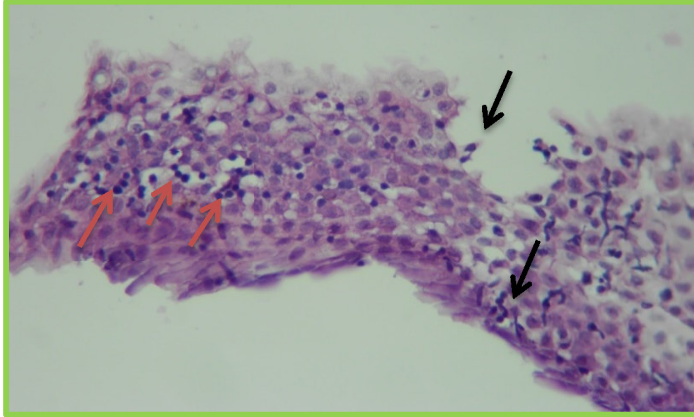
*Figura 13. Edema perilamelar (flechas). H&E 400X.*



En el estudio histopatológico de piel (Cuadro 8), se observó como el mayor hallazgo histopatológico: la infiltración de células inflamatorias (Figura 14) en el 20% (12/60) de las muestras, también se evidenció la hiperplasia de células epiteliales (Figura 15) y necrosis epitelial (Figura 16)

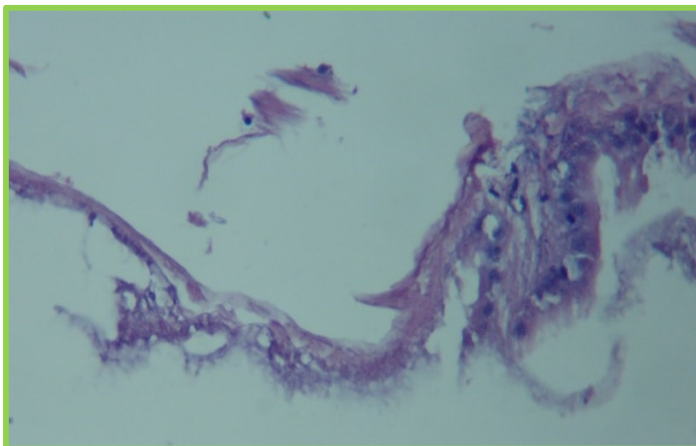
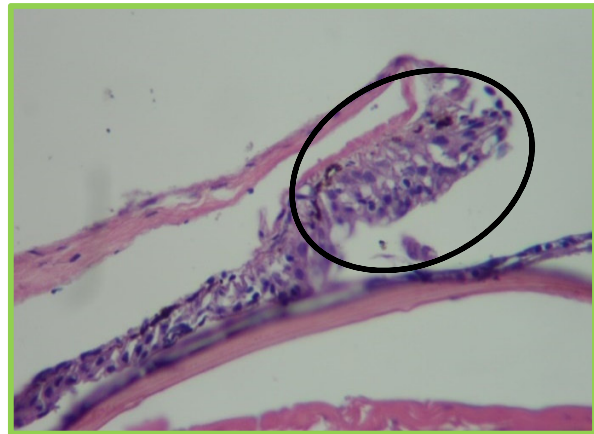
**Cuadro 8. Frecuencia de alteraciones histológicas de la piel según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos-Perú.**

TIPO DE TRASTORNOS	GRADO DE AFECCIÓN					ALTERACIÓN	
	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (n/n)	%
<b>DEL CRECIMIENTO</b>							
<b>Hiperplasia de células epiteliales</b>	57	1	2	0	0	3/60	5
<b>INFLAMATORIOS</b>							
<b>Infiltración de células inflamatorias</b>	48	3	8	1	0	12/60	20
<b>DEGENERATIVOS</b>							
<b>Necrosis epitelial</b>	59	0	1	1	0	2/60	3.3



*Figura 14. Hiperplasia epitelial (toda la lámina), áreas de necrosis (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.*

*Figura 15. Hiperplasia epitelial (Círculo) H&E 400X.*



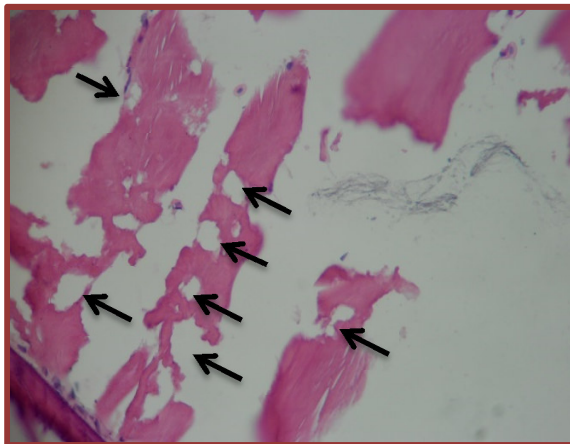
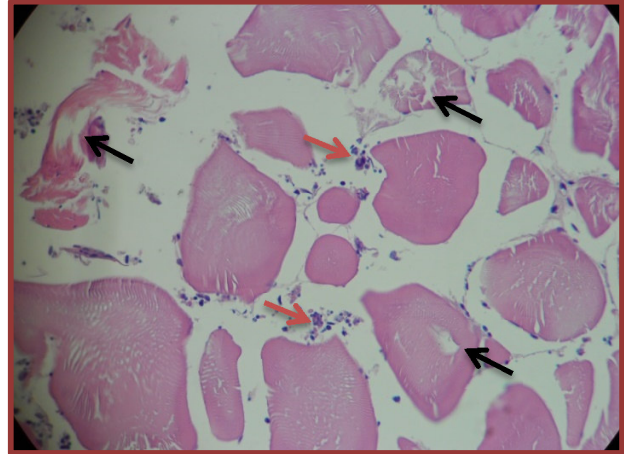
*Figura 16. Necrosis epitelial. H&E 400X.*

Correspondiente al estudio histopatológico del músculo esquelético (Cuadro 9), se observó necrosis de las fibras musculares (Figuras 17 y 18) en un 95% (57/60), infiltración de células inflamatorias (Figura 19) en el 73.3% (44/60) de las muestras, se puede evidenciar también quistes de *Microsporidium* sp. (Figura 20) y granulomas bacterianos (Figuras 21 y 22).

**Cuadro 9. Frecuencia de alteraciones histológicas del músculo esquelético según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos-Perú.**

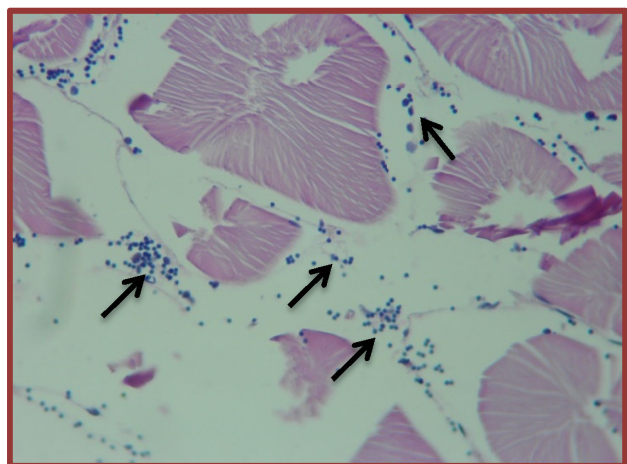
TIPO DE TRASTORNOS	GRADO DE AFECCIÓN					ALTERACIÓN	
	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (n/n)	%
<b>DEL CRECIMIENTO</b>							
<b>Trastorno del crecimiento</b>	60	0	0	0	0	0/60	0
<b>PARASITARIOS</b>							
<b>Quistes de <i>Microsporidium</i> sp.</b>	57	3	0	0	0	3/60	5
<b>INFLAMATORIOS</b>							
<b>Granulomas bacterianos</b>	57	3	0	0	0	3/60	5
<b>Infiltración de células inflamatorias</b>	16	38	6	0	0	44/60	73.3
<b>DEGENERATIVOS</b>							
<b>Necrosis de las fibras musculares</b>	3	36	21	0	0	57/60	95

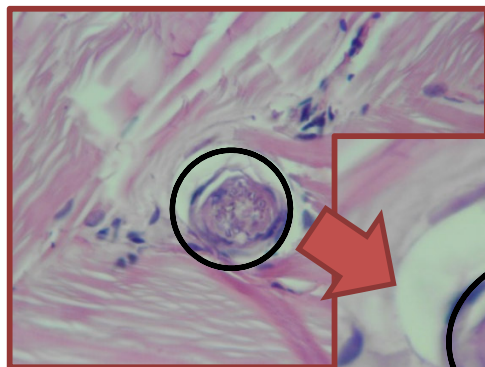
*Figura 17. Necrosis de las fibras musculares (flechas negras), Infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 100X.*



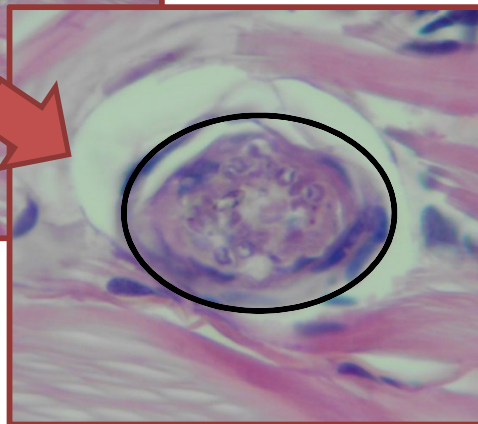
*Figura 18. Necrosis de las fibras musculares (flechas). H&E 400X.*

*Figura 19. Infiltración de células inflamatorias (flechas). H&E 400X.*





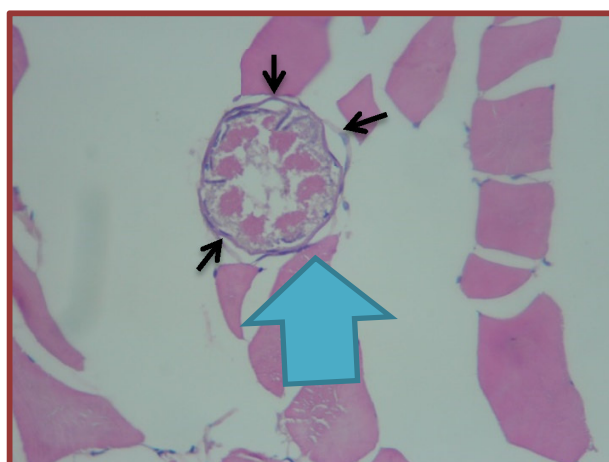
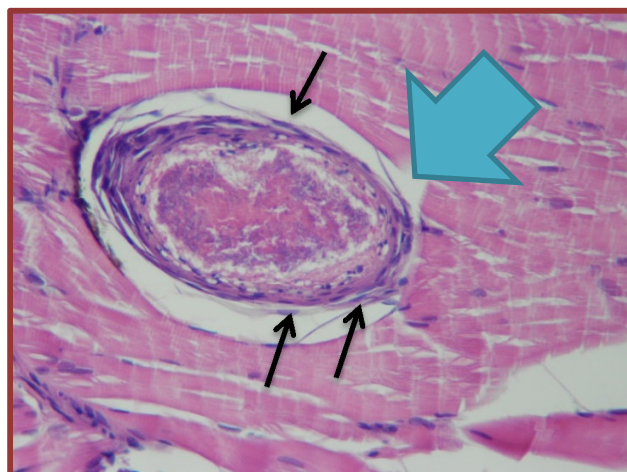
(a)



*Figura 20. Quistes con esporas de Microsporidium sp. (círculos). H&E (a) Vista a 100X y (b) vista a 400X.*

(b)

*Figura 21. Granuloma bacteriano (flecha azul), nótese alrededor los fibroblastos (flechas negras). H&E 400X.*



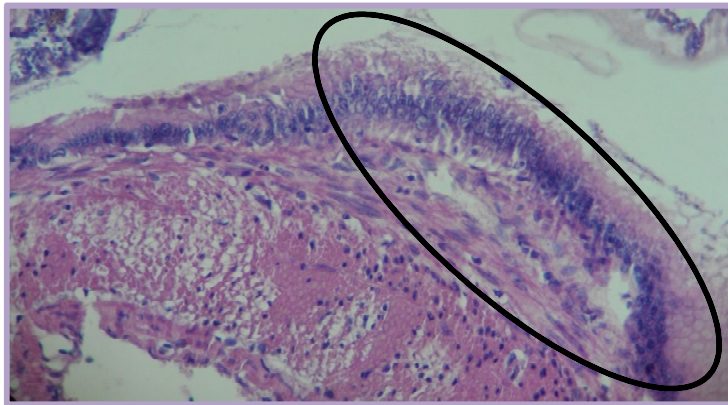
*Figura 22. Granuloma bacteriano (flecha azul), nótese alrededor los fibroblastos (flechas negras). H&E 400X.*

En caso del estudio histopatológico del estómago (Cuadro 10), se observó hiperplasia de las células epiteliales (Figuras 23 y 24) en un 85% (51/60), otros hallazgos histopatológicos fueron: atrofia de las células epiteliales (Figura 25), desprendimiento de las células epiteliales y necrosis del epitelio estomacal (Figura 26).

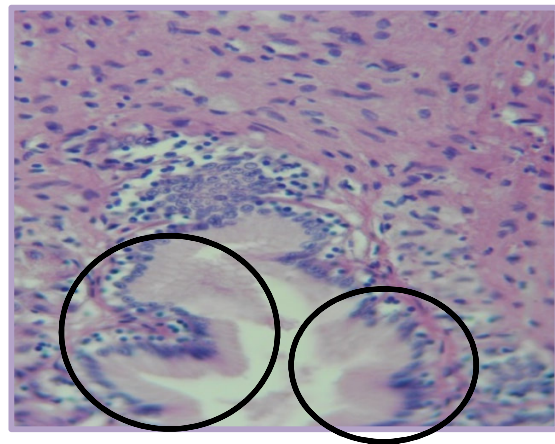
**Cuadro 10. Frecuencia de alteraciones histológicas del estómago según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos-Perú.**

TIPO DE TRASTORNOS	GRADO DE AFECCIÓN					ALTERACIÓN	
	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (n/n)	%
<b>DEL CRECIMIENTO</b>							
<b>Hiperplasia de las células epiteliales</b>	9	6	26	16	3	51/60	85
<b>Atrofia de las células epiteliales</b>	54	0	5	1	0	6/60	10
<b>DEGENERATIVOS</b>							
<b>Desprendimiento de las células epiteliales</b>	48	10	2	0	0	12/60	20
<b>Necrosis del epitelio estomacal</b>	34	13	3	0	0	26/60	43.3

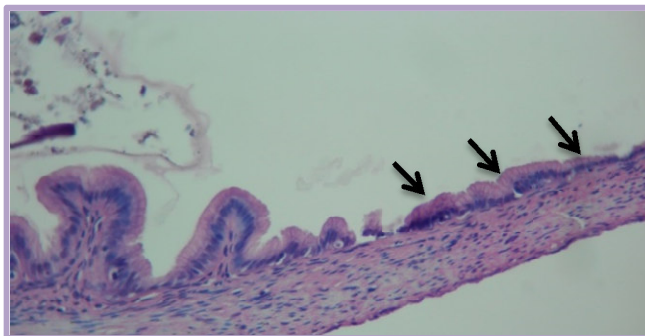




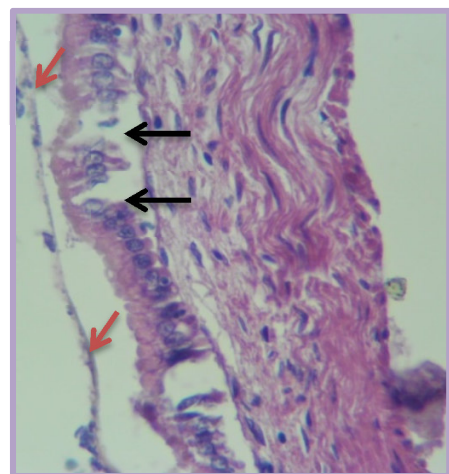
*Figura 23.  
Hiperplasia celular  
(circulo). H&E 400X.*



*Figura 24. Hiperplasia  
celular (círculos) H&E*

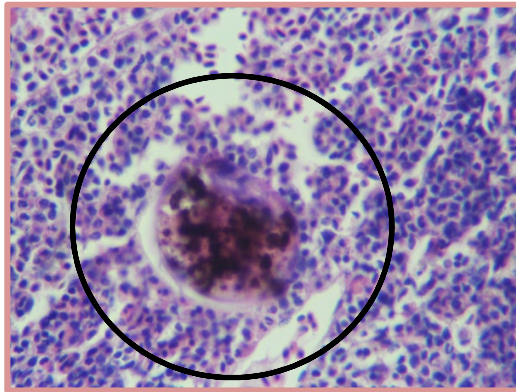


*Figura 25. Atrofia de la mucosa  
gástrica (flechas). H&E 400X.*



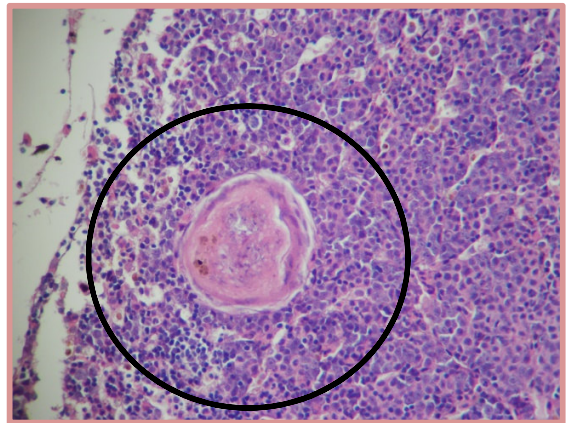
*Figura 26. Necrosis (flechas  
negras) y desprendimiento  
de las células epiteliales  
(flechas rojas). H&E 400X.*

En caso del estudio histopatológico del bazo solo se observó granulomas bacterianos (Figuras 27 y 28) en un 13.3% (8/60) de todas las muestras, el grado de afección por estos granulomas fueron escasos y leves.



*Figura 27. Granuloma bacteriano (Circulo). H&E 400X.*

*Figura 28. Granuloma bacteriano (Circulo). H&E 400X.*

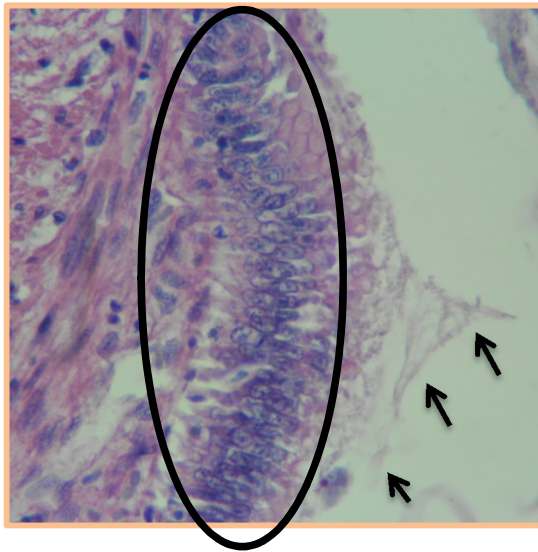




Con respecto al estudio histopatológico del intestino (Cuadro 11) se observó hiperplasia de las células epiteliales (Figura 29) en un 78.3% (47/60), también se observó necrosis de los enterocitos (Figuras 30 y 31) en un 41.6% (25/60), otros hallazgos histopatológicos encontrados fueron: hiperplasia de las células productoras de mucus (Figura 32), degeneración hidrópica (Figura 33) y atrofia de los enterocitos (Figura 34).

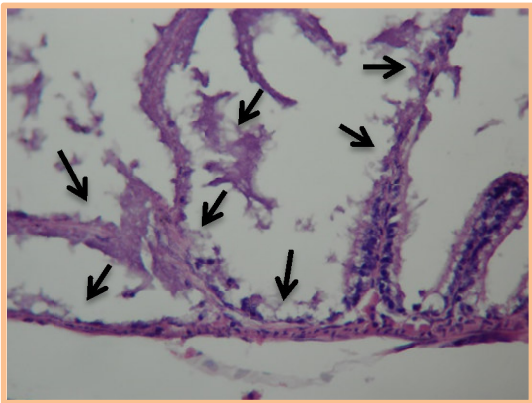
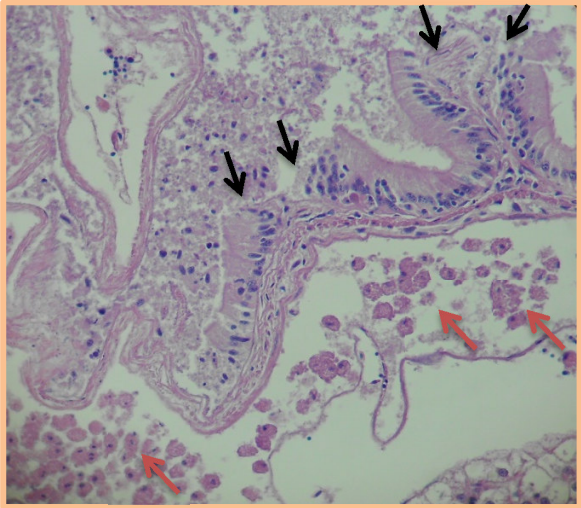
**Cuadro 11. Frecuencia de alteraciones histológicas de los intestinos según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos-Perú.**

TIPO DE TRASTORNOS	GRADO DE AFECCIÓN					ALTERACIÓN	
	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (n/n)	%
<b>DEL CRECIMIENTO</b>							
Hiperplasia de las células epiteliales	13	2	24	17	4	47/60	78.3
Hiperplasia de las células productoras de mucus	53	0	6	1	0	7/60	11.6
Atrofia de las células epiteliales	58	1	1	0	0	2/60	3.3
<b>INFLAMATORIOS</b>							
Infiltración de células inflamatorias	53	3	4	0	0	7/60	11.6
<b>DEGENERATIVOS</b>							
Degeneración hidrópica	54	0	5	1	0	5/60	8.3
Desprendimiento de las células epiteliales	48	9	3	0	0	12/60	20
Necrosis de los enterocitos	35	6	10	9	0	25/60	41.6



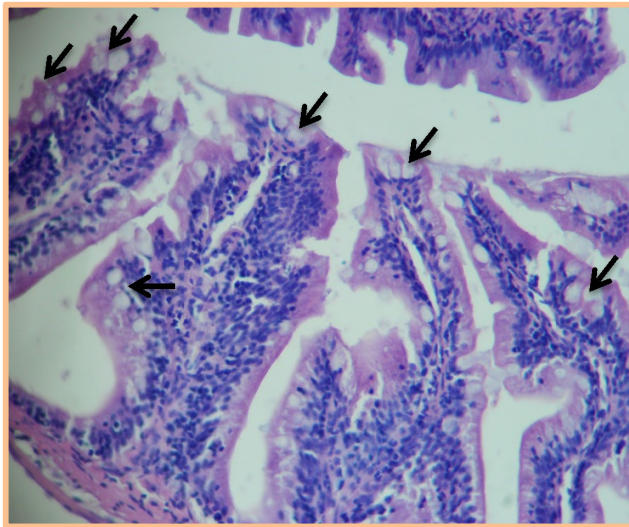
*Figura 29. Hiperplasia de las células epiteliales (círculo) y desprendimiento de las células intestinales (flechas). H&E 400X.*

*Figura 30. Necrosis de las vellosidades intestinales (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.*

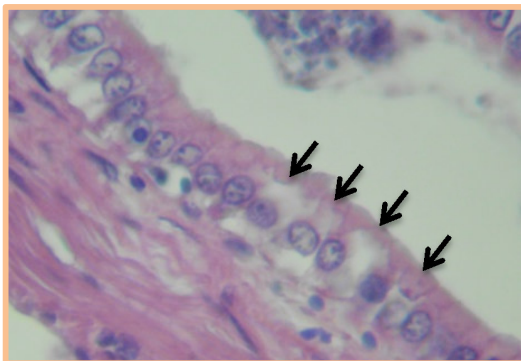


*Figura 31. Necrosis de las vellosidades intestinales (flechas). H&E 400X.*

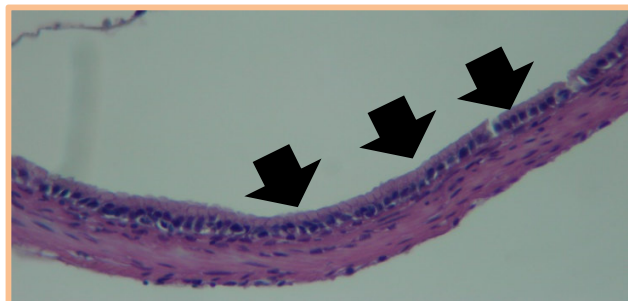
*Figura 32. Hiperplasia de las células productoras de mucus (flechas). H&E 400X.*



*Figura 33. Degeneración hidrópica de las células intestinales (flechas). H&E 400X.*



*Figura 34. Atrofia de las células intestinales (flechas). H&E 100X.*



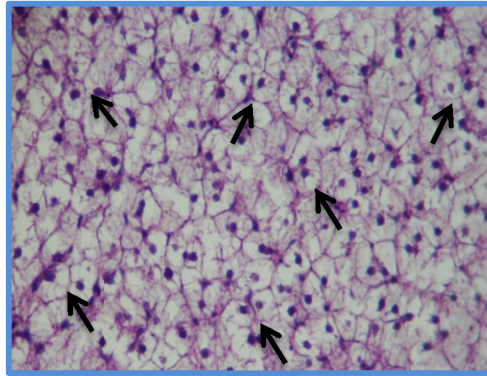
Correspondiente al estudio histopatológico del hígado (Cuadro 12), se observó con más frecuencia: degeneración hidrópica (Figura 35) en un 88.3% (53/60) y degeneración grasa (Figura 36) en un 43.3% (26/60), las cuales presentaron grados de afección severos. Otro hallazgo histopatológico importante fue los granulomas parasitarios en un 33.3% (20/60) (Figura 37), también se evidenciaron: áreas de necrosis (Figura 38 y 39), granulomas bacterianos (Figura 40) y congestión hepática (Figura 41).

**Cuadro 12. Frecuencia de alteraciones histológicas del hígado según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de**

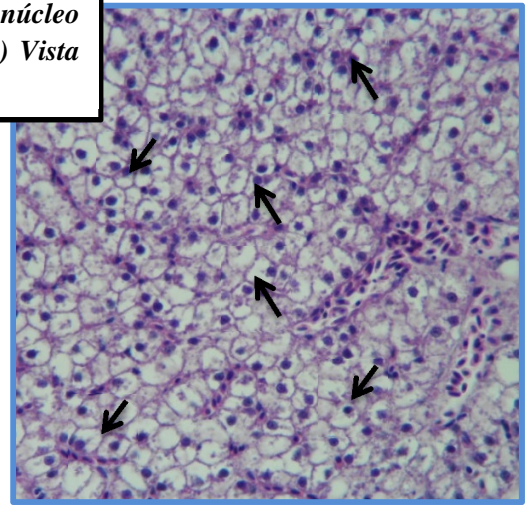
TIPO DE TRASTORNOS	GRADO DE AFECCIÓN					ALTERACIÓN	
	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (n/n)	%
<b>CIRCULATORIOS</b>							
<b>Congestión hepática</b>	39	0	14	7	0	21/60	35
<b>INFLAMATORIOS</b>							
<b>Granuloma parasitario</b>	40	11	9	1	0	20/60	33.3
<b>Granuloma bacteriano</b>	56	4	0	0	0	4/60	6.6
<b>Infiltración de células inflamatorias</b>	48	0	12	0	0	12/60	20
<b>DEGENERATIVOS</b>							
<b>Degeneración hidrópica</b>	7	1	2	21	29	53/60	88.3
<b>Degeneración grasa</b>	34	0	10	11	5	26/60	43.3
<b>Necrosis de los hepatocitos</b>	50	2	7	1	0	10/60	16.6



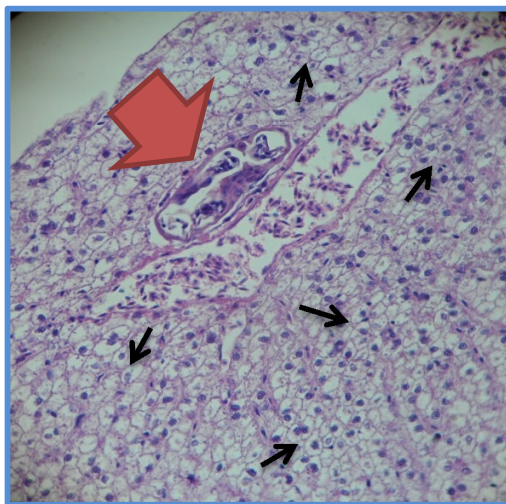
**Figura 35. Degeneración grasa de los hepatocitos, obsérvese los hepatocitos redondeados con su núcleo excéntrico. (flechas). H&E (a) vista a 400X. (b) Vista cerca de un vaso sanguíneo a 400X.**



(a)

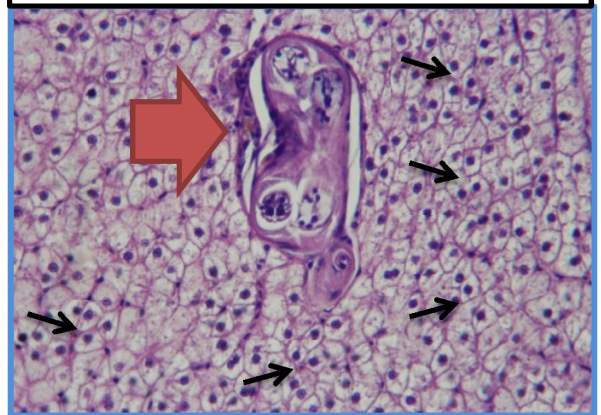


(b)

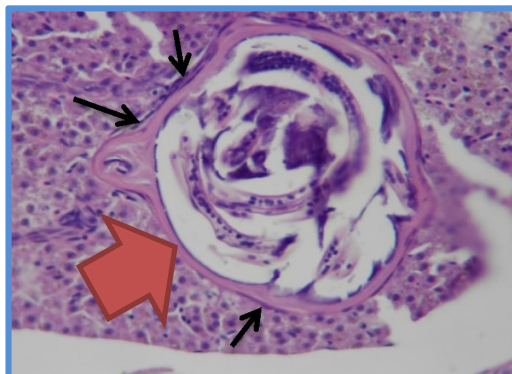


(a)

**Figura 36. Granuloma parasitario cerca de un vaso sanguíneo (flecha roja) y degeneración hidrópica en los hepatocitos (flechas negras). H&E (a) vista a 100X y (b)**

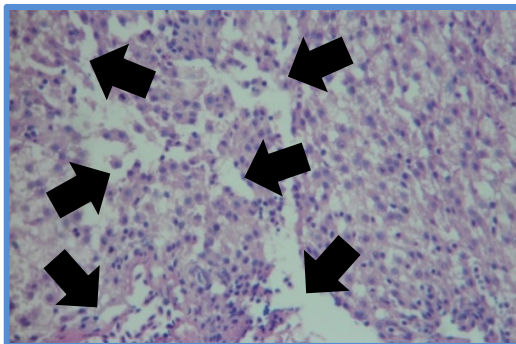
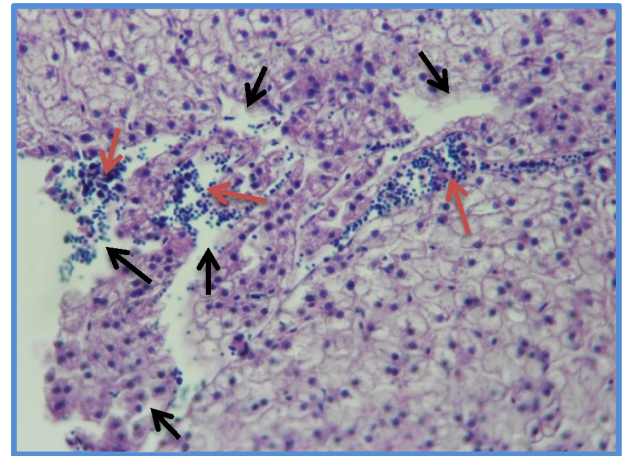


(b)

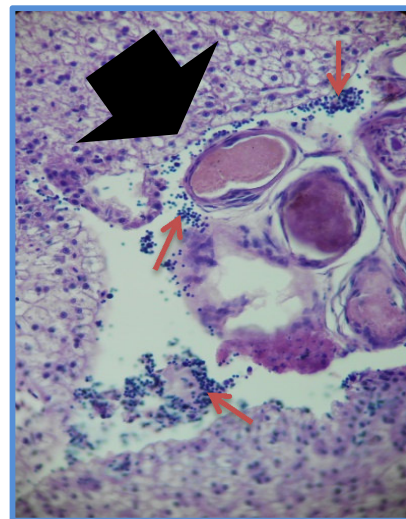


**Figura 37. Granuloma Parasitario (flecha roja), obsérvese fibroblastos rodeando a la estructura parasitaria (flechas negras). H&E 400X.**

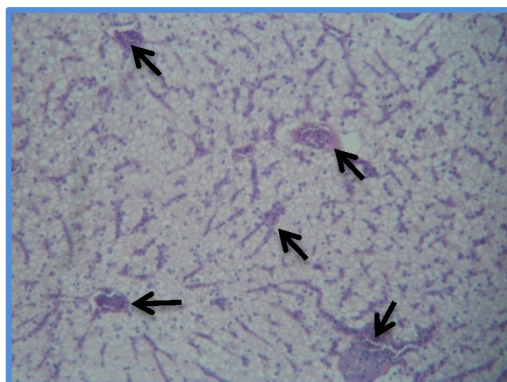
*Figura 38. Áreas de necrosis de los hepatocitos (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.*



*Figura 39. Necrosis en los hepatocitos (círculo). H&E 400X.*



*Figura 40. Granuloma bacteriano (flecha negra) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas).*



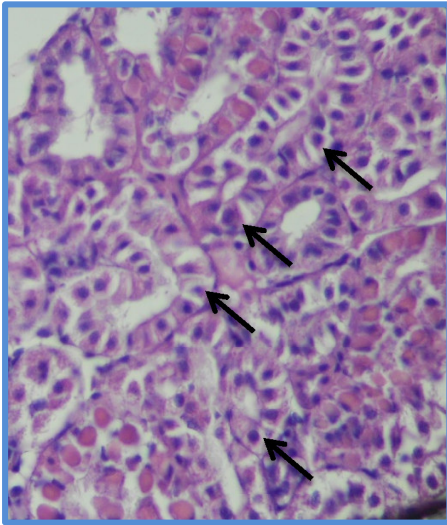
*Figura 41. Congestión hepática, obsérvese los vasos sanguíneos pletorizados (flechas). H&E*

El estudio histopatológico del riñón (Cuadro 13) se observó que la mayoría de las muestras (93.3%) (56/60) en los tubulares renales presentaban degeneración hidrópica (Figura 42) y en más de la mitad (61.6%) (37/60) se determinó edema peritubular (Figura 43). Otro hallazgo importante fue los granulomas bacterianos que fueron observados en una frecuencia del 13.3% (8/60) (Figura 44), también se observó atrofia de los túbulos renales (Figura 45) y necrosis de los túbulos renales (Figuras 46 y 47).

**Cuadro 13. Frecuencia de alteraciones histológicas de los riñones según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos-Perú.**

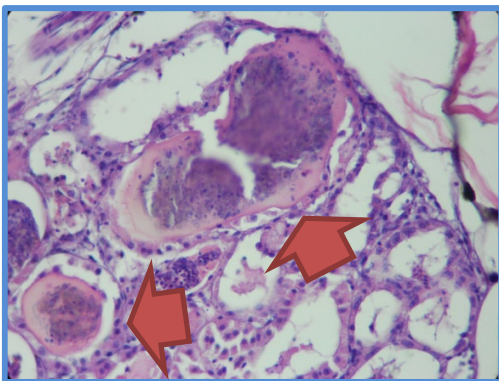
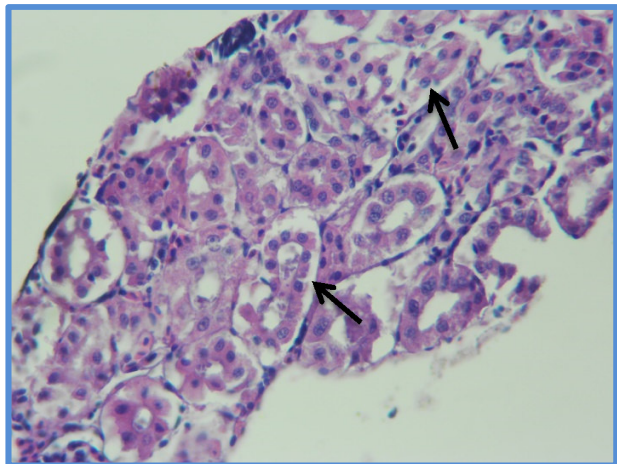
TIPO DE TRASTORNOS / LESIONES	GRADO DE AFECCIÓN					ALTERACIÓN	
	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (n/n)	%
<b>DEL CRECIMIENTO</b>							
<b>Atrofia de los túbulos renales</b>	59	1	0	0	0	1/60	1.6
<b>CIRCULATORIOS</b>							
<b>Edema peritubular</b>	23	35	2	0	0	37/60	61.6
<b>INFLAMATORIOS</b>							
<b>Granuloma bacteriano</b>	52	8	0	0	0	8/60	13.3
<b>Infiltración de células inflamatorias</b>	52	7	0	1	0	8/60	13.3
<b>DEGENERATIVOS</b>							
<b>Degeneración hidrópica</b>	4	0	16	33	7	56/60	93.3
<b>Necrosis de los túbulos renales</b>	46	13	0	1	0	14/60	23.3





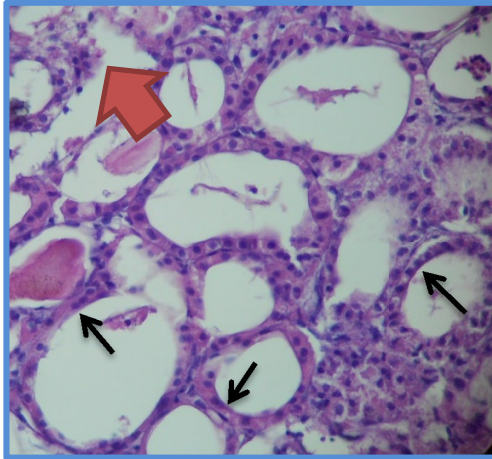
*Figura 42. Degeneración  
hidrónica de los túbulos  
renales (flechas). H&E 400X.*

*Figura 43. Edema peritubular  
(flechas). H&E 400 X.*



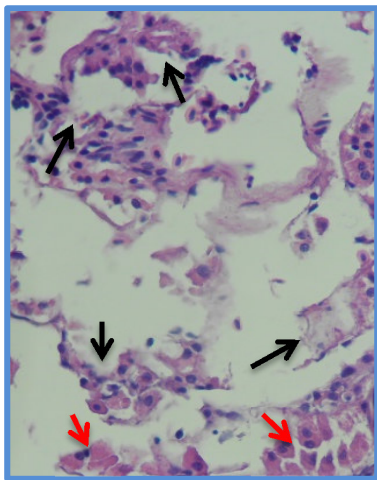
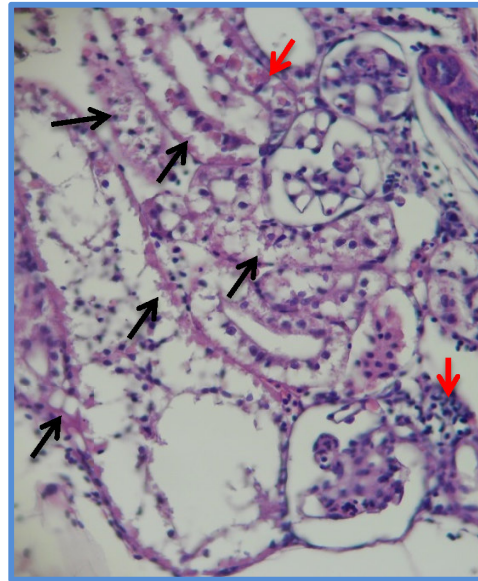
*Figura 44. Granuloma bacteriano  
(flechas rojas). H&E 400X.*





*Figura 45. Atrofia de los túbulos renales (flechas negras) y áreas de necrosis (flecha roja). H&E 400X.*

*Figura 46. Necrosis de los túbulos renales (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.*

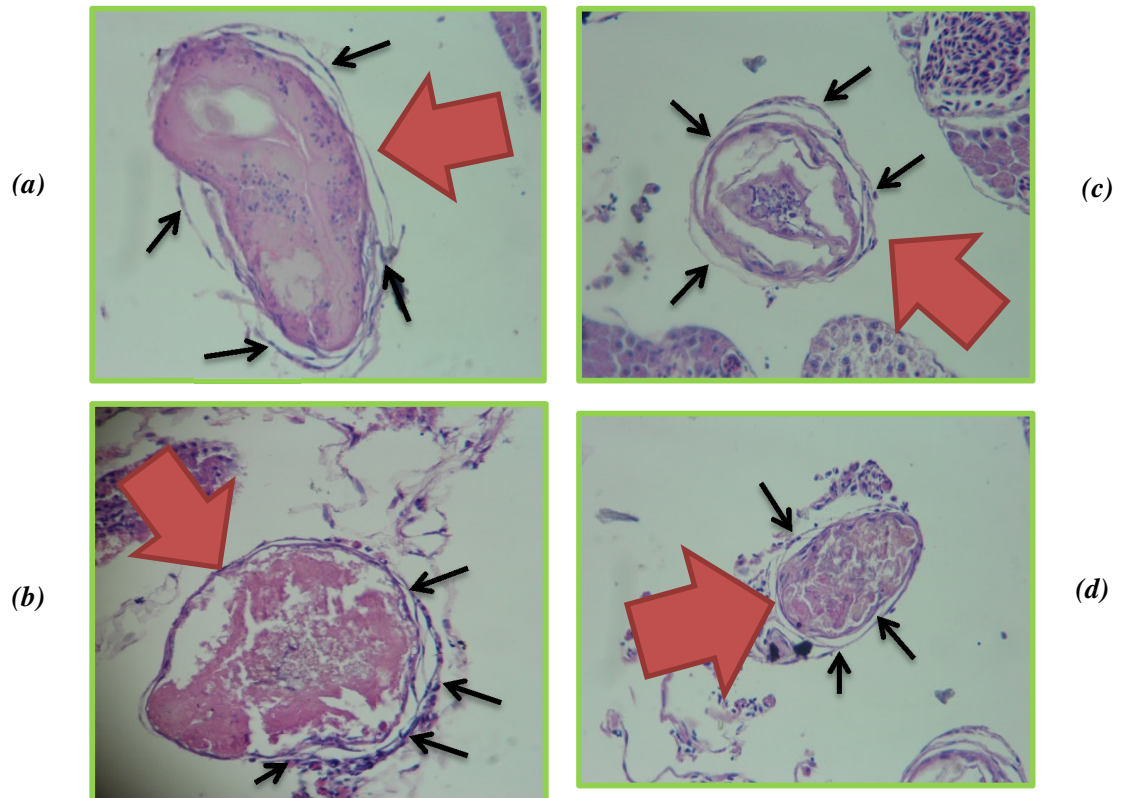


*Figura 47. Necrosis de los túbulos renales (flechas negras) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.*

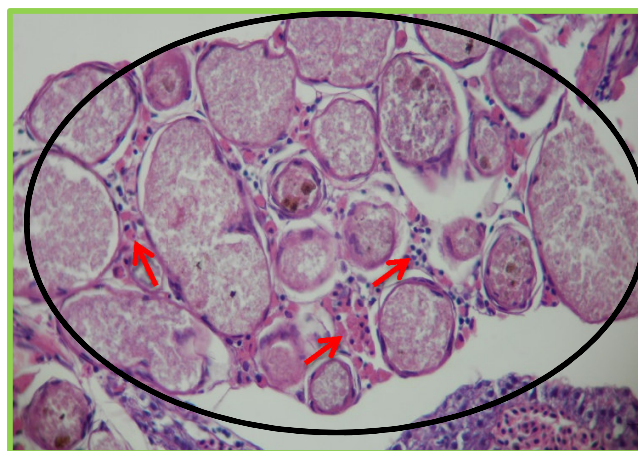
En la observación histopatológico del peritoneo se encontraron 3 lesiones (Cuadro 14), se encontró granulomas bacterianos (Figuras 48 y 49) en un 31.6% (19/60), infiltración de células inflamatorias (Figura 50) en un 16.6% (10/60) y granulomas parasitarios (Figura 51) en 36.6% (22/60).

**Cuadro 14. Frecuencia de alteraciones histológicas del peritoneo según el tipo de trastorno y su grado de afección en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos-Perú.**

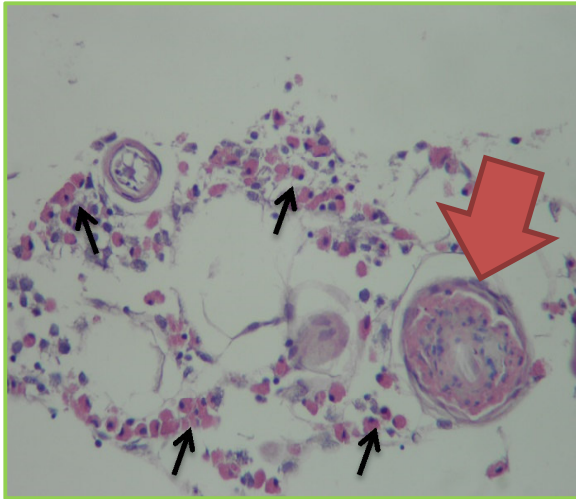
TIPO DE TRASTORNOS /LESIONES	GRADO DE AFECCIÓN					ALTERACIÓN	
	Normal (n)	Escaso (n)	Leve (n)	Moderado (n)	Severo (n)	Total (n/n)	%
<b>DEL CRECIMIENTO</b>							
<b>Trastorno del crecimiento</b>	60	0	0	0	0	0/60	0
<b>INFLAMATORIOS</b>							
<b>Granuloma bacteriano</b>	41	7	10	0	2	19/60	31.6
<b>Granuloma parasitario</b>	38	6	11	5	0	22/60	36.6
<b>Infiltración de células inflamatorias</b>	40	0	5	4	1	10/60	16.6



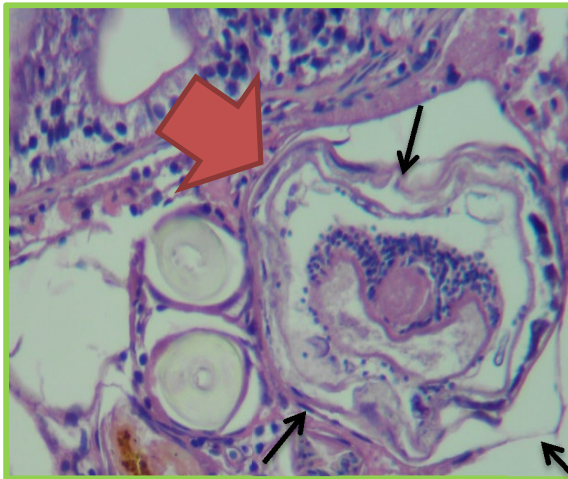
*Figura 48. (a, b, c, d) Granulomas bacterianos (flechas rojas), obsérvese los fibroblastos rodeando a estas estructuras bacterianas (flechas negras). H&E 400X.*



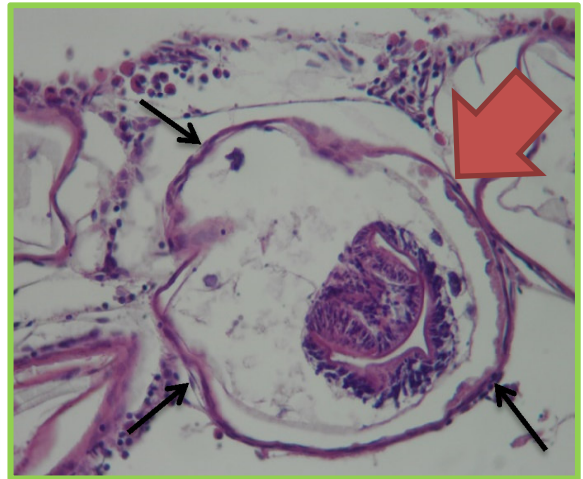
*Figura 49. Múltiples granulomas bacterianos (círculo) e infiltración de células inflamatorias (flechas rojas). H&E 400X.*



*Figura 50. Granuloma bacteriano (flecha roja) e infiltración de células inflamatorias (flechas negras). H&E 400X.*



(a)



(b)

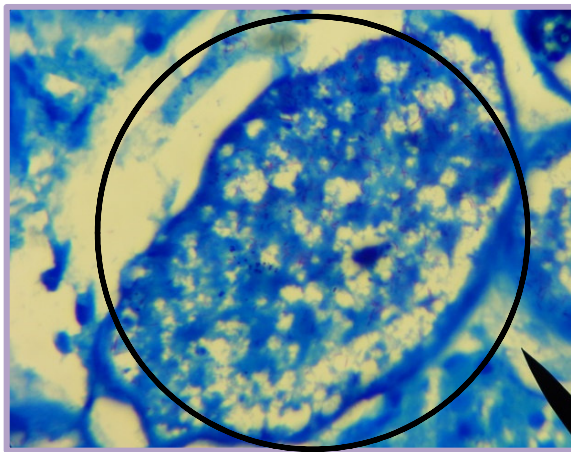
*Figuras 51 (a, b). Granuloma parasitario (flecha roja), obsérvese los fibroblastos rodeando a estas estructuras parasitarias (flechas negras). H&E 400X.*

Las muestras de los distintos órganos donde se observó granulomas bacterianos fueron sometidos a tinción de Ziehl Neelsen, donde un 52.3% (22/42) de las muestras fueron positivas (Cuadro 15). El porcentaje de granulomas positivos a Ziehl Neelsen en cada órgano fue: hígado 75% (3/4), el riñón 50% (4/8), el músculo esquelético 33.3% (1/3), el bazo 25% (2/8) y el peritoneo 63.1% (12/19). En la observación histopatológico se evidenció bacterias bacilares acidorresistentes en el interior de los granulomas (Figura 52).

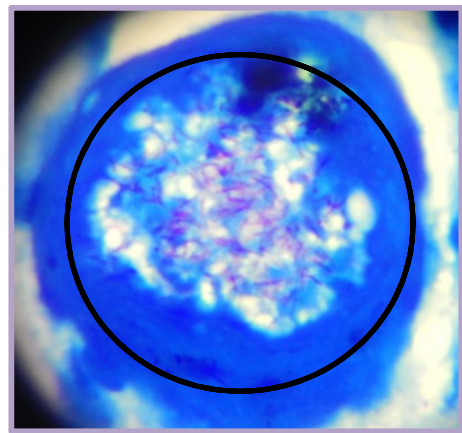
**Cuadro 15. Frecuencia de granulomas bacterianos positivos a Ziehl Neelsen en el Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) procedente de Iquitos-Perú.**

TEJIDOS CON GRANULOM. BACT.	LÁMINAS CON GRANULOM. (n)	LÁMINAS CON GRANULOM. (+) A ZIEHL NEESEN (n)	TOTAL (n/n)	%
Hígado	4	3	3/4	75
Riñón	8	4	4/8	50
Músculo esquelético	3	1	1/3	33.3
Bazo	8	2	2/8	25
Peritoneo	19	12	12/19	63.1
Total	42	22	22/42	52.3



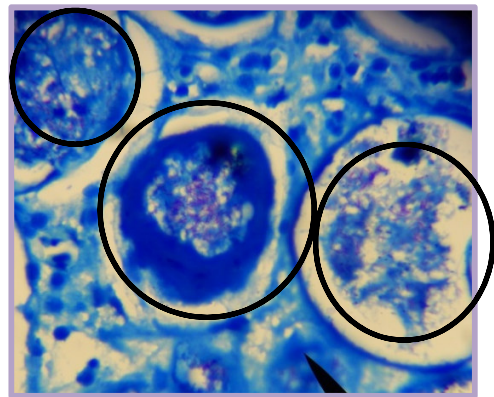


(a)



(b)

*Figura 52 (a, b, c). Granulomas bacterianos positivos a Ziehl Neelsen, obsérvese bacterias bacilares acidorresistentes en el interior de los granulomas (círculo). Ziehl Neelsen 1000X.*



(c)

## V. DISCUSIÓN

Hasta el momento no han sido descritos estudios microbiológicos e histopatológicos en los peces ornamentales amazónicos Tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) en nuestro país. Se debe de agregar que existe poca bibliografía de agentes infecciosos que afectan a este tipo de pez.

En el presente estudio no se encontraron lesiones histopatológicas en los ojos de los peces, es decir no hubo ninguna alteración histológica en este órgano, el 100% (60/60) de los tejidos se encontraban normales y esto asociado a que no se evidenció ningún agente microbiano ni tampoco ninguna respuesta de tipo inflamatoria en dicho órgano. Los agentes microbianos que fueron aislados por cultivo generalmente no causan daño a los ojos de los peces lo que se relaciona con lo escrito anteriormente.

A nivel de las branquias, las lesiones fueron una leve a severa hiperplasia del epitelio de revestimiento lamelar y la fusión de lamelas, estos dos hallazgos histopatológicos se observaron en el 100% (60/60) de las muestras. La hiperplasia epitelial es una respuesta adaptativa frente al daño severo, cuando la hiperplasia no es lo suficientemente rápida para proteger a las lamelas ocurre la fusión lamelar (Ramírez *et al.*, 2009). Estas respuestas que se evidencian por histología pueden ser causadas por múltiples factores como agentes bacterianos, parasitarios e incluso por una mala calidad del agua (Noga, 2000). En esta investigación, las lesiones en las branquias pueden ser provocadas debido a causas

infecciosas de tipo parasitario como *Mixosporidium* sp. ya que fueron evidenciados en todas las muestras 100% (60/60) de las branquias estudiadas y que además son causantes de hiperplasia epitelial y fusión de lamelas (Domitrovic, 1998).

Otras lesiones observadas fueron la atrofia de los filamentos secundarios en un 11.6% (7/60), congestión lamelar en un 28.3% (17/60) de los tejidos estudiados e infiltración de células inflamatorias en 63.3% (38/60). La atrofia de la lamela es una respuesta ante infecciones bacterianas y parasitarias así como también una mala calidad de agua (Noga, 2010), esta lesión se observa como un acortamiento de la misma que puede interpretarse como un proceso de reparación posterior a un grave daño en la integridad de la lamela. Iregui et al. (1999) reportó en un estudio histopatológico en branquias de cachama blanca (*Piaractus brachyomus*), la presencia de mixoporidios y una severa atrofia de las lamelas con una reacción inflamatoria. La infiltración de células inflamatorias en las branquias, la congestión de las lamelas así como su atrofia estarían directamente relacionadas con la presencia de los parásitos del género *Mixosporidium* sp.

Finalmente con respecto a las branquias se evidenciaron en 55% (33/60) de los tejidos edema perilamelar, el cual es una afección aguda relacionada a un agente no infeccioso de tipo ambiental o tóxico como la exposición a metales pesados (Marcos Godoy Patología en Acuicultura, 2013) y por sustancias como el endosulfán (Nowak, 1992) y el formol bufferado el cual es empleado para la preservación de muestras (Ferguson, 2006). En este caso las lesiones pueden haber sido producidas por la calidad del agua ya que estos peces amazónicos viven en la cuenca amazónica, el cual tiene altas cargas de materia orgánica y otros tipos de desechos tóxicos (Universidad Autónoma de Barcelona, 2014) o debido al formol ya que para la preservación de las muestras se utilizó dicha sustancia química.

Los animales muestreados no presentaron alteraciones externas en las branquias ni mostraron signos clínicos que comprometían su sistema respiratorio como boqueo, a pesar de las lesiones histológicas observadas descritas anteriormente. Esto puede explicarse porque las alteraciones en este órgano fueron en su mayoría de grado leve a moderado y que en esta especie dulceacuícola no fueron capaces de producir signos clínicos. Verján en el 2002 explica que los peces amazónicos pueden tolerar cierto número de parásitos sin



manifestar signos clínicos e incide que la infección, así como patologías no equivale a una enfermedad clínica. Sin embargo es importante tener en cuenta que los mixosporidios son agentes microbianos que ante situaciones de estrés para el pez, pueden proliferar muy rápido y causar lesiones severas que puedan comprometer las branquias y causar graves problemas en la salud del pez.

Con respecto a la piel se encontró en un 3.3% (2/60) necrosis en este tejido, un 20% (12/60) de las muestras presentaban infiltración de células inflamatorias y un 5% (3/60) evidenció hiperplasia de células epiteliales. Estos hallazgos histopatológicos están relacionados a un proceso inflamatorio asociado a bacterias gramnegativas, con un proceso circulatorio y de regeneración. Este tipo de lesiones son similares a las encontradas por Mohamed *et al.* (2008) en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) infectadas naturalmente por *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas fluorescencia*. Estas lesiones se producen debido a las enzimas extracelulares de estas bacterias, las cuales tienen actividades hemolíticas y proteolíticas como lo menciona Austin y Austin (1987), estas enzimas tienen un efecto tóxico los cuales juegan un papel importante en la causa de exudación, degeneración y necrosis de los tejidos (Mohamed *et al.* 2008).

Las aeromonas móviles son importantes como agentes patógenos de peces, es importante tener en cuenta que estas bacterias forman parte de la microflora de los intestinos de peces sanos (Trust *et al.* 1974). Por lo tanto, la presencia de estas bacterias, no es indicativo de enfermedad y es el estrés un factor contribuyente para que se produzcan los brotes de enfermedades.

La enfermedad por pseudomonas ocurre cuando las defensas de los peces se encuentran disminuidas por factores estresantes como temperaturas elevadas, alimentación deficiente, sobreprolación o mal manejo de los peces (Salcido, 1998).

La necrosis, la infiltración de células inflamatorias y la hiperplasia en la piel, se sugiere que fueron causados por bacterias pertenecientes al género *Aeromona* sp. o *Pseudomona* sp. debido a que las lesiones fueron similares a las mencionadas por otros autores y siendo el transporte un factor estresante que provocaría inmunosupresión y susceptibilidad para

que se desarrolle la enfermedad además en el aislamiento microbiológico se pudo identificar estos dos géneros bacterianos. Es importante señalar que las lesiones no fueron severas y solo se presentaron en un pequeño porcentaje de peces debido tal vez a que estos individuos fueron los más susceptibles dentro del grupo muestreado y no se descarta que con el paso del tiempo las lesiones fueron más graves y los demás individuos tengan también alteraciones en la piel.

A nivel del músculo esquelético, se encontró escasos quistes de *Microsporidium* sp. en un 5% (3/60), escasos granulomas bacterianos con un porcentaje igual de 5% (3/60) y leve infiltración de células inflamatorias en 73.3% (44/60).

Con respecto a los quistes de microsporidios, se observaron estructuras parasitarios uninucleados y en división, sugerentes de ser merontes de *Microsporidium* sp, habiendo una leve reacción inflamatoria en la periferia. La confirmación del género *Microsporidium* sp. se comprobó mediante tinción gram, el cual según Noga (2000), presenta afinidad a la coloración grampositiva. Ferguson (2006), sostiene que la mayoría de los microsporidios con estadios inmaduros parecen producir una leve a nula respuesta inflamatoria y generalmente, son encontrados como hallazgos incidentales en el trabajo de rutina diagnóstica.

La presencia de escasos quistes de microsporidios podría deberse a las condiciones del medio ambiente, manejo, grado de infestación o inmunidad del hospedero (Gonzales y Heredia, 1998).

Los granulomas bacterianos encontrados en el tejido muscular, pueden estar asociados a infecciones por agentes bacterianos del género: *Mycobacterium* sp., *Staphylococcus* sp. que producen lesiones granulomatosas en los órganos internos (Conroy, 2009).

Por otra parte también se observó necrosis en el músculo esquelético en un 95% (57/60) de los peces evaluados. Estos cambios patológicos son rápidamente detectables en la fibra muscular y fueron descritas por Takashima e Hibiya (1995). Rajeshkumar y Munuswamy (2011) evidenciaron tumefacción de fibras musculares y ruptura de haces musculares.

La necrosis hallada en el músculo esquelético de los peces que no presentaban quistes de *Microsporidium* sp. ni granulomas bacterianos, se manifestaron en forma leve y con una escasa infiltración de células inflamatorias, ellos nos puede sugerir probablemente una relación de estas lesiones con deficiencias nutricionales como es el caso de la Vitamina E. Lovell *et al.* (1984), describió áreas de necrosis en las fibras musculares en el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) alimentados con dietas bajas de alfa-tocoferol. Murai y Andrews (1974), también describieron cambios histológicos pronunciados en las fibras musculares y distrofia muscular en peces de la misma especie alimentados con bajos niveles de Vitamina E.

Por lo descrito anteriormente, la necrosis encontrada en este estudio puede estar relacionada con agentes bacterianos o parasitarios pero también pueden estar asociados a deficiencias nutricionales ya que en casi todas las muestras se encontró leves áreas de necrosis y muchas veces acompañada de leve infiltración de células inflamatorias, las cuales sirvieron para la eliminación de las células necrosadas, tal como lo describieron Rajeshkumar y Munuswamy en el 2011.

En el estómago se encontró hiperplasia en un 85% (51/60), atrofia de las células epiteliales 10% (6/60), desprendimiento de las células epiteliales 20% (12/60) y necrosis de las células epiteliales 43.3% (26/60).

No hay muchos estudios acerca de las lesiones en el estómago de peces, sin embargo estas lesiones pueden estar explicadas por el efecto de contaminantes en el río Amazonas, ya que muchos de ellos provocan daño en la mucosa gástrica tal como lo señalan Haloí *et al.* (2013) en un estudio sobre los cambios patológicos en el estómago de la especie *Chana Punctatus* provocados por pesticidas, donde se encontró hiperplasia de las células epiteliales, necrosis de los enterocitos, desprendimiento de las células epiteliales. Un contaminante importante en el agua también son los minerales como el plomo, que causa daño en la mucosa gástrica por aumento de radicales libres (Dai *et al.*, 2009; Abdallah *et al.*, 2010). De igual manera no podemos dejar pasar que las lesiones también pueden haber sido ocasionado por bacterias, como las que fueron aisladas en el examen microbiológico de este estudio, así como a los parásitos que fueron encontrados en hígado y peritoneo, que

si bien no se encontraron en este órgano no se puede afirmar que no afectan también a este órgano que es parte del sistema digestivo.

En las lesiones encontradas en el intestino, se evidenció hiperplasia de las células epiteliales 78.3% (47/60), Hiperplasia de las células productoras de mucus en 11.6% (7/60) de todas las muestras.

Un periodo de ayuno prolongado o una situación de estrés (a la captura y traslado), generándose cambios en la permeabilidad intestinal, este cambio causa un daño a la mucosa intestinal. (Farhadi et al., 2003; Lambert, 2009).

Otras lesiones también fueron encontradas como: atrofia de las células epiteliales 3.3% (2/60), infiltración de células inflamatorias 11.6% (7/60), degeneración hidrópica 8.3% (5/60), desprendimiento de las células epiteliales 20% (12/60) y necrosis de los enterocitos 41.6% (25/60).

Los contaminantes pueden provocar ciertas lesiones como lo demuestra un estudio hecho por Ramírez *et al.* (2009) que evidenciaron lesiones patológicas en el intestino de la cachama blanca (*Piaractus brachipomus*) inducidas por la exposición a agentes químicos, estas fueron: hiperplasia de los enterocitos, hiperplasia de las células de moco, infiltración de células inflamatorias, necrosis y desprendimiento leve de los enterocitos.

La hiperplasia de los enterocitos y células mucosas pueden ser consecuencia de la presencia constante de parásitos en la mucosa (Jubb et al., 2007). Los parásitos también pueden ocasionar otras lesiones en los intestinos tal como lo demuestra el estudio hecho en México en el 2004 por Vásquez , donde se estudia las lesiones causadas por helmintos en el aparato digestivo de peces, y se determinó que las larvas de *Hysterothylacium* sp. fueron los que más daño causaron, ya que migran causando daño en estómago, intestino anterior y posterior de los peces provocando reacción inflamatoria y necrosis. Otro parásito causante de lesiones es el cestodo *Proteocephalus chameleensis*, que ocasionó atrofia del epitelio del intestino.

Hay bacterias relacionadas con lesiones en el intestino de peces como es el caso de las pseudomonas, así lo demostraron Magi *et al.* en el 2009, en un estudio que consistía en evaluar las lesiones histopatológicas causadas por *Pseudomona anguillisepticum*, donde se encontró que este agente bacteriano causó hiperplasia de los enterocitos, infiltración de células inflamatorias, necrosis y desprendimiento de la mucosa.

Con todo lo explicado anteriormente podemos deducir que las lesiones observadas en el intestino pueden deberse a múltiples causas, ya sea por el estrés debido a que estos peces fueron capturados y trasladados hacia Lima desde Iquitos, esto puede haber provocado lesiones como la hiperplasia de los enterocitos por el cambio de la permeabilidad. Sin embargo existieron otras lesiones a nivel intestinal que están relacionadas con agentes patógenos causantes del daño en este órgano, como es el caso de bacterias del género *Pseudomonas* sp. que fueron aisladas en el estudio microbiológico de los tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*) y que podrían haber dañado el epitelio intestinal provocando las diferentes lesiones patológicas. Por otra parte también se encontró granulomas parasitarios en hígado y peritoneo demostrando que estos peces alojaban en sus organismos parásitos los cuales pueden haber provocado lesiones como necrosis de los enterocitos, reacción inflamatoria y atrofia del epitelio intestinal. A todo esto podemos añadirle otra causa como es la polución del agua del río Amazonas, de donde provienen estos tetras, como se mencionó anteriormente; los contaminantes pueden causar: hiperplasia de los enterocitos, hiperplasia de las células de moco, infiltración de células inflamatorias, necrosis y desprendimiento leve de los enterocitos, lesiones que justamente fueron halladas en este tejido, por lo cual tampoco se descartaría esta última causa.

En el hígado se encontró una degeneración hidrópica en un 88.3% (53/60), degeneración grasa en un 43.3% (26/60) de las muestras.

López *et al.* (2001) reportaron una mayor cantidad de cambios degenerativos en el hígado de salmonídeos (81.8%), siendo la degeneración grasa y vacuolar las más observadas, lo que indicaría que estos procesos son importantes en peces debido y pueden estar relacionados a distintas causas (fallas circulatorias, dietas mal balanceadas, carencias nutricionales y procesos tóxicos, entre otros).

Wolf y Wolfe (2005), sostienen que una acumulación de lípidos en los hepatocitos de peces podría ser resultado de una sobrealimentación y una dieta excesivamente rica en energía. Similarmente, Reyna en 1993, señala problemas nutricionales como dietas ricas en grasa, movilización de grasa en estados de caquexia donde la grasa se acumula en el hepatocito, dietas pobres en proteínas, estados de hipoxia y anoxia, e intoxicaciones entre las causas que origina un cambio graso.

Vigliano *et al.* (2002) menciona que también contribuye a la degeneración grasa, los ayunos prolongados, que se caracteriza en fases tempranas por una movilización rápida de las reservas, sin son periodos largos de ayuno se asocia a un pronunciado catabolismo de los lípidos y proteínas, produciendo la pérdida de peso. Asimismo, Guillaume *et al.* (2004) menciona que durante el ayuno hay un aumento de la actividad gluconeogénica en hígado utilizando los aminoácidos como sustrato para la síntesis de glucosa y ésta puede ser transformada en grasa.

En algunas especies de peces, el hígado es el órgano principal de almacenamiento de las grasas, evidenciando histológicamente gotas lipídicas en el citoplasma de los hepatocitos, incluso trastornos grasos que comprometen amplias áreas del parénquima no son considerados patológicos (Cowey y Roberts, 1981).

Wolf y Wolfe (2005), sostienen que debido a que varios peces silvestres y en cautiverio sanos tienen la capacidad de almacenar grandes cantidades de lípidos, es difícil la interpretación patológica.

Se observó escasos granulomas bacterianos en 6.6% (4/60) de las muestras de hígado.

Con respecto a los granulomas bacterianos estos pueden ser producidas por bacterias del género *Streptococcus* sp., *Mycobacterium* sp. y *Staphylococcus* sp. (Conroy, 2009). Un estudio hecho por Huang *et al.* (1999), encontró por histopatología granulomas en distintos órganos como: el hígado, riñón, bazo, mesenterio, estómago e intestinos de tilapias infectadas con *Staphylococcus epidermidis*.

También se encontró escasos granulomas parasitarios en un 33.3% (20/60).

Estos hallazgos pueden estar relacionados con lo reportado por Yudi *et al.* (2013) que encontraron parásitos pluricelulares como larvas de nematodos del género *Contracaecum* sp. y *Capillaria* sp. en el tracto digestivo e hígado, y acantocéfalos del género *Quadrigyrus* sp. en el estómago e intestino en el pez ornamental *Aystianax bimaculatus* de la Amazonía brasileña. La sardina de dos puntos (*Aystianax bimaculatus*) es el nombre común de este pez que pertenece a la familia Characidae a la cual también pertenece el tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*), por ello no se descarta que pueden ser los mismos agentes parasitarios los que infecten a estos dos peces.

Sin embargo tampoco se puede determinar cuáles son los parásitos que hayan infectado a los tetra corazón sangrante (*Hyphessobrycon erythrostigma*), ya que solo se pudo evidenciar estructuras pluricelulares compatibles con parásitos en el estudio histopatológico. Se tendría que realizar un estudio netamente parasitológico para identificar los parásitos que infectan a este pez ornamental.

Otras lesiones encontradas en este mismo órgano fueron: leve infiltración de células inflamatorias en un 20% (12/60), leve a moderada necrosis de los hepatocitos en 16.6% (10/60), así como leve a severa congestión hepática 35% (21/60),

Las afecciones hepáticas son poco descritas en teleósteos, sin embargo el hígado es susceptible a las intoxicaciones y alteraciones metabólicas. Las intoxicaciones hepáticas pueden causar necrosis aguda. (Roberts, 2001). Silva en el 2004 observó focos de necrosis en el hígado de algunos peces lambari (*Astyanax scabripinnis*) que fueron colectados en ríos que recibían aguas residuales domésticas y de empresas agroindustriales, demostrando así que las aguas contaminadas causan un daño directo al hígado.

Estudios histopatológicos del hígado de peces infectados con *Pseudomonas* sp, *Aeromonas* sp., *Mycobacterium* sp. muestran focos necróticos en este órgano (Gueiros, 2007).

Los focos necróticos encontrados pueden deberse al daño de los hepatocitos por agentes bacterianos, sin embargo no se descarta el factor ambiental, ya que estos peces provienen de la cuenca amazónica, la cual es una zona bastante contaminada con desechos tóxicos y

materia orgánica (Universidad Autónoma de Barcelona, 2014) y pueden provocar necrosis en los hepatocitos como lo demuestra el estudio hecho por Silva en el 2004.

La congestión activa puede indicar un proceso de adaptación que lleva a un aumento del flujo sanguíneo en el tejido hepático, facilitando el transporte de células con respuesta inflamatoria a las regiones dañadas de este tejido y también mejorando el oxígeno en estas áreas que han sufrido perjuicio (Anderson y Zeeman, 1995). La congestión y la infiltración de células de inflamación observadas en este estudio son una respuesta frente al daño directo del tejido hepático.

El bazo presentó escasos granulomas bacterianos en un 13.3% (8/60) de los tejidos evaluados.

Como se explicó anteriormente, en los peces las enfermedades que presentan lesiones granulomatosas son generalmente producidas por bacterias del género *Streptococcus* sp., *Mycobacterium* sp. y *Staphylococcus* sp. (Conroy, 2009). Un estudio hecho por Huang *et al.* (1999), encontró por histopatología granulomas en distintos órganos como: el hígado, riñón, bazo, mesenterio, estómago e intestinos de tilapias infectadas con *Staphylococcus epidermidis*.

Estos agentes bacterianos que pueden ser los causantes de producir estas lesiones granulomatosas en hígado también pueden haber producido estas mismas lesiones en el bazo.

En el riñón se encontraron diversas lesiones como: la degeneración hidrópica 93.3% (56/60), edema peritubular 61.6% (37/60), atrofia de los túbulos renales 1.6% (1/60) y necrosis de los túbulos renales en un 23.3% (14/60) de los tejidos evaluados.

Hibiya *et al.* (1982) menciona que la degeneración hidrópica antecede a la presentación de la degeneración hialina y la excesiva acumulación hialina podría conllevar a la necrosis del epitelio, evidenciándose por la vacuolización del citoplasma y la pycnosis.

La exposición a metales pesados o productos químicos agrícolas también pueden afectar indirectamente el túbulo mediante la promoción de anomalías metabólicas. Ferguson



(2006), menciona que la necrosis inducida por el hexaclorobutadieno (HCBd) en goldfish, provoca degeneración hídrica (principalmente en el segmento 2, 3 del túbulo proximal) haciendo que se vea claramente la hinchazón celular en las tinciones H&E. Sin embargo, dado a que la morfología de los segmentos del túbulo lesionado cambia drásticamente, es difícil identificar qué segmento se lesiona, usando sólo tinción H&E. Las tinciones con enzimas histoquímicas, tales como, gamma glutamitranspeptidasa pueden ayudar a identificar qué parte de las nefronas está involucrado. Las vacuolas son el resultado de hinchamiento mitocondrial, y como falla la función mitocondrial, la células pierde su capacidad de osmorregulación y se hincha (Ferguson, 2006). Cuando esta alteración es irreversible, suele conducir a la muerte celular observándose edema intracelular, que corresponde al aumento de agua y sodio en el citoplasma o en las cisternas del retículo endoplásmico, este fenómeno se debe a la alteración de la Bomba de Na, K y ATP así producido por la disminución de ATP (Cotran *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2004; De Castro y Pérez, 2007).

Fathy *et al.* (2009) estudiaron los cambios histopatológicos en *Poecilia reticulata* y *Gambusia affinis* expuestos al bisfenol A (compuesto orgánico, empleado en la fabricación de plásticos) observando atrofia de los túbulos renales en estos peces ornamentales.

Otras lesiones vistas en la histopatología del riñón fueron: granulomas bacterianos 13.3% (8/60). Estas lesiones como se explicó anteriormente en los hallazgos encontrados en el hígado, son producidas por géneros bacterianos como: *Streptococcus* sp., *Mycobacterium* sp. y *Staphylococcus* sp. (Conroy, 2009). Los granulomas en el riñón también se describen en enfermedades causadas por *Flavobacterium* sp. (Killuge, 1965).

El daño en el tejido renal, ya sea provocado por las bacterias o por productos químicos indujo a una respuesta inflamatoria, tal y como se observó en un 13.3% (8/60) de las muestras, las cuales presentaron infiltración de linfocitos y células granulares eosinófilas.

Del trabajo realizado en el presente estudio, se deduce que las lesiones encontradas en el riñón, se pueden deber al efecto provocado por las bacterias, ya que se encontró granulomas bacterianos en este tejido, las cuales causaron daño en el tejido renal. Estas lesiones

encontradas en el riñón, también podrían ser explicadas debido al efecto de causas no infecciosas relacionadas a una mala calidad del agua, debido a que los peces provienen de la captura en ríos del Amazonas, los cuales tienen generalmente altas cargas de materia orgánica y desechos tóxicos (Universidad Autónoma de Barcelona, 2014).

Finalmente se evaluó el peritoneo donde se evidenciaron: granulomas bacterianos en un 31.6% (19/60), granulomas parasitarios siendo 36.6% (22/60) e infiltración de células inflamatorias en el 16.6% (10/60) de las muestras estudiadas.

Estos resultados están relacionados con los descritos en los distintos órganos mencionados anteriormente donde se encontró estas lesiones. Las bacterias y los parásitos que infectaron a estos peces provocaron una respuesta de tipo inflamatoria para combatir a estos agentes lesivos, tal y como se evidencia en la histopatología.

Finalmente se evaluó el peritoneo donde se evidenciaron: granulomas bacterianos en un 31.6% (19/60), granulomas parasitarios siendo 36.6% (22/60) e infiltración de células inflamatorias en el 16.6% (10/60) de las muestras estudiadas.

Revenga et al. (1995) describen una respuesta del peritoneo frente a una infección, observando una reacción focal de tipo granulomatosa similar a las que se producen en órganos parenquimatosos. Estos resultados están relacionados con los descritos en los distintos órganos mencionados anteriormente donde se encontró estas lesiones. Las bacterias y los parásitos que infectaron a estos peces provocaron una respuesta de tipo inflamatoria para combatir a estos agentes lesivos, tal y como se evidencia en la histopatología.

Los granulomas bacterianos observados en la histopatología en diferentes órganos: el hígado (4), riñón (8), músculo esquelético (3), bazo (8) y peritoneo (19) fueron sospechosos de ser producidos por *Mycobacterium* sp. por lo que se realizó la tinción de Ziehl Neelsen para confirmar la infección por este género bacteriano. Después de realizar este procedimiento quedo demostrado: 75% (1/3) de las muestras en hígado, 50% (4/8) en el caso del riñón, 33.3% (1/3) con respecto al músculo esquelético, 25% (2/8) de las muestras de bazo y 52.3% (22/42) en peritoneo fueron positivos a Ziehl Neelsen y estos granulomas

eran provocados por *Mycobacterium* sp., confirmando la presente de este agente bacteriano en el tetra bleeding heart (*Hyphessobrycon erythrostigma*).

Las Mycobacterias se han reportado en más de 150 especies de peces de agua dulce y marinos (Frerichs, 1993). Las más comunes en peces de acuario y en el medio natural son: *M. marinum*, *M. fortuitum* y *M. chelonae* (Roberts, 2001), otras menos conocidas son *M. abscessus*, *M. neoaurum*, *M. scrofulaceum* y *M. siniae*, todas con capacidad de infectar al ser humano (Rhodes *et al.*, 2001).

Los peces evaluados no presentaron signos de enfermedad, Frecuentemente, no hay indicios de enfermedad hasta que los tejidos son examinados (Parisot, 1958).

Estas bacterias inducen enfermedad sistémica crónica con formación de granulomas en órganos externos e internos de los peces (Frerichs, 1993). Los tetra bleeding heart presentaron granulomas más simples, no presentaron muchos componentes celulares como: las células multinucleadas que se observan en mamíferos, esto también fue evidenciado por Verján *et al.* (2002) encontraron en 7 especies de peces ornamentales: escalar (*Pterophyllum altum*), cardenal (*Paracheiroidon axelrodi*), disco (*Symphysodon aequifasciata*), betta (*Betta splendens*), goldfish (*Carassius auratus*) y gourami (*Trichogaster trichopterus*), infecciones por *Mycobacterium* sp., produciendo granulomas en tejidos parenquimatosos y conectivos, en el caso del cardenal, los granulomas estuvieron compuestos por un centro necrótico o rico en bacterias positivas a la coloración de Z-N y células fusiformes formando la pared del mismo.

*Mycobacterium* sp. puede infectar a los humanos (Rhodes *et al.*, 2001), estos resultados nos pueden indicar desde un punto de vista de zoonosis, es necesario realizar estudios que respecto relacionan a los patógenos en peces ornamentales y su capacidad de producir enfermedad en humanos.

Con respecto a los aislamientos bacteriológicos, se identificaron 7 géneros bacterianos: *Flavobacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Aeromonas* sp., *Lactobacillus* sp. y 1 *Escherichia* sp. que crecieron en Agar TSA, Agar Cytophaga, Agar GSP y Agar Mc Conkey a partir de las muestras de riñón y bazo analizados.

Se observaron lesiones características por estos agentes y fueron detallados en la discusión de las lesiones en los distintos órganos, por ejemplo se encontraron granulomas bacterianos en el músculo, peritoneo, hígado, bazo y riñón, estos fueron negativos a Ziehl Neelsen descartando que hayan sido producidos por *Mycobacterium* sp. y reforzando la idea que otro agente bacteriano los haya causado.

Los géneros *Aeromonas* sp. y *Pseudomonas* sp. pueden producir lesiones en piel, como se evidenció en la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) Mohamed *et al.* (2008), estos géneros bacterianos también focos necróticos en el hígado (Gueiros, 2007).

*Staphylococcus* sp. provoca lesiones granulomatosas en los diferentes órganos internos, como se encontró en este estudio en hígado, bazo, riñón, músculo esquelético y peritoneo. (Conroy, 2009).

*Flavobacterium* sp. también se describe que puede ocasionar granulomas en el riñón, tal como se observó en la evaluación de este tejido. (Klluge, 1965).

El género bacteriano *Escherichia* es una bacteria que puede causar daño a nivel intestinal o producir lesiones en las branquias y en la piel, como ha sido observado en peces ornamentales tropicales del género *Poecilia* sp. y *Carassius* sp. (Austin y Austin, 2007).

Se debe destacar que ningún de los peces presentó sintomatología clínica antes de realizar el estudio, esto puede sustentarse porque la presentación de la enfermedad en los peces se basa en un complejo formado por el pez, ambiente y patógeno. Siendo el pez susceptible cuando su medio acuático se ve alterado, lo cual es aprovechado por el patógeno para su presentación (Francis-Floyd, 2009; Palmeiro, 2010).

Estas bacterias son patógenas secundarias en muchos casos y pueden desencadenar la enfermedad bajo condiciones de estrés, como es el caso del transporte, ya que la enfermedad rara vez va a desarrollar por el simple contacto del patógeno y el hospedero (Parker, 2012).

Puede ser que el transporte (Iquitos- Lima) haya causado estrés, y de esta manera haya una disminución de la respuesta inmune, lo cual fue aprovechado por las bacterias para

multiplicarse y causar lesiones internas que aún no se manifestaban como enfermedad ni causaban signos clínicos evidentes, ya que el tiempo de la recepción de los peces hasta el estudio fue rápido y las lesiones observadas no fueron severas en su mayoría.

Aún hay muy pocos trabajos sobre los patógenos que afectan a los peces ornamentales amazónicos, como las especies de géneros bacterianos, las cuales fueron motivo de estudio en este trabajo. Sin embargo, los estudios moleculares adicionales son de importancia fundamental para corroborar los resultados obtenidos y profundizar estas investigaciones.

Es creíble que haya un posible riesgo de transmisión de patógenos debido al comercio exportador de este tipo de peces desde el Amazonas Peruano a varios países principalmente de América del Norte y Asia.

## VI. CONCLUSIONES

Se determinaron agentes infecciosos parasitarios en los tetra bleeding heart, como es el caso de protozoos: *Mixosporidium* sp. en branquias y *Microsporodim* sp. en músculo.

Se aislaron 7 agentes bacterianos como: *Flavobacterium* sp., *Lactobacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp. y *Escherichia* sp.

Se encontraron diversos hallazgos histopatológicos, en las branquias se observó hiperplasia y fusión de lamelas, en hígado y peritoneo se hallaron granulomas parasitarios y bacterianos; en caso del músculo y bazo se encontraron granulomas bacterianos, en el estómago e intestino se observó hiperplasia de las células epiteliales; en riñón se evidencio degeneración hidrópica, necrosis los túbulos renales y granulomas bacterianos.

Una parte de los granulomas fueron positivos a la tinción de Ziehl Neelsen, donde se evidencio bacterias bacilares largas acidorresistentes, que son compatibles con *Mycobacterium* sp.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Se recomienda a los centros acopiadores, acuaristas profesionales y acuaristas a menor escala:

- Contar con sistemas periódicos de monitoreo clínico.
- Realizar exámenes complementarios a la evaluación clínica como: el estudio microbiológico, parasitológico y el estudio histológico.
- Tomar en cuenta las especies bacterianas cuando se presuma de alguna infección de origen bacteriano que afecte a estos peces.
- Los peces antes de ser exportados, deben ser evaluados no solo clínicamente también debe realizarse exámenes de laboratorio, como: examen histopatológico y microbiológico de algunas individuos pertenecientes al mismo lote, que aseguren que los peces enviados al extranjero son peces saludables.
- Las condiciones en las que se trasladen los peces deben ser lo menos estresante para ellos, ya que el estrés disminuye la respuesta inmune en los peces y estos pueden verse susceptibles a cualquier agente bacteriano.
- Estos peces antes de ser introducidos a un acuario con otras especies de peces ornamentales deben ser puestos en cuarentena.

➤ Realizar la limpieza de los ambientes acuáticos (acuarios, pozas) con guantes, para de esta manera estar protegidos y evitar cualquier infección zoonótica, como las producidas por *Mycobacterium* sp.

Se recomienda realizar estudios que profundicen y determinen las especies bacterianas que afectan a estos peces, para luego realizar pruebas moleculares confirmatorias de estos agentes patógenos, y de esta manera dichas pruebas puedan ser utilizadas de manera muy rápida y eficaz para su diagnóstico.

Se sugiere investigar sobre los helmintos que podrían infectar estos peces amazónicos.

Investigar sobre la implicancia zoonótica de los peces ornamentales como causantes de enfermedades en el humano, como es el caso de las micobacteriosis.



### VIII. LITERATURA CITADA

1. **Abdallah GM, El-Sayed SM, Abosalem OM. 2010.** Effect of lead toxicity on coenzima Q levels in rat tissues. Food Chem. Toxicol. 48, 1753-1756.
2. **Agius C, Roberts R. 2003.** Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. J Fish Dis. 26: 499 - 509.
3. **Altringham J, Ellerby D. 1999.** Fish swimming: patterns in muscle function. Journal of Experimental Biology, 202 (23), 3397- 3403.
4. **Amlacher E. 1964.** Manual de enfermedades de los peces. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
5. **Anderson DP, Zeeman MG. 1995.** Inmunology in Fish. In: RAND GM. Fundamentals of Aquatic Toxicology Effects: environmental fate and risk assesment. 2.ed.: Taylor y Francis. p 135-369.
6. **Aquanovel. 2013.** España. Podredumbre de las aletas. [Internet], [10 agosto 2015]. disponible en: <http://aquanovel.com/podredumbre-de-aletas/>
7. **Aquino A. 2009.** Sistema tegumentario en peces. En: Manual de prácticas de morfofisiología de cordados. México: Universidad de Juárez. p 21-26.

8. **Araujo A, Bances K. 2009.** Actualización de información de la cadena productiva de peces ornamentales. Centro de Promoción de la Biodiversidad Amazónica. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP. Iquitos, Perú 24 pp.
9. **Atencio V, Hernandez J, Pardo S. 2008.** Descripción morfología del tubo digestivo de juveniles de rubio (*Salminus affines*). Acta Biológica Colombiana, 13 (3), 99-112.
10. **Austin B, Austin D. 2007.** Bacterial fish pathogens. Diseases of farmed and wild fish. 4<sup>a</sup> ed. Chichester: Germany. 575p.
11. **Austin B, Austin D. 1987.** Bacterial fish pathogens: Diseases in farmed and wild fish. 1<sup>a</sup> ed. Ellis Horwood: Toronto. 111-195p
12. **Azevedo C, Matos E. 2003.** Fine structure of *Henneguya pilosa* sp.n (Myxozoa:Myxosporidae), parasite of *Serrasalmus altuvei* (Characidae), in Brazil. Folia Parasitológica. 50:37-42.
13. **Baensch H.A., Riehl R. 1994.** Atlas del acuario. 4<sup>a</sup> ed. Hong Kong: Mergus. 992 p.
14. **Barassa B, Adriano E, Arana S, Cordeiro N. 2003.** *Henneguya curvata* sp.n. (Myxosporidia: Myxobolidae) Parasiting the gills of *Serrasalmus spilopleura* (Characidae: Serrasalminae), a South american freshwater fish. Folia Parasitológica. 50:151-153.
15. **Bland JM, Altman DG. 1986.** Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet. [Internet], [10 octubre 2015]. Disponible en: <https://www-users.york.ac.uk/~mb55/meas/ba.pdf>
16. **Blazer VS. 1991.** Piscine macrophage function and nutritional influences: A review. J Aquat Anim Health. 3: 77:86
17. **Carnevia D. 2014.** Enfermedades en peces ornamentales. Uruguay. [Internet], [3 agosto 2015]. disponible en: <http://es.slideshare.net/ernestova/enfermedades-peces-ornamentales>

18. **Carvalho E, Belém A, Porto J. 2015.** Identificação bioquímica de bactérias patogênicas isoladas de peixes ornamentais no estado do Amazonas. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim. Vol 16. N°1.
19. **[CFSPH] The Center for Food Security and Public Health. 2007.** Micobacteriosis. The Center for Food Security and Public Health. Aquatic Animal Disease.8:1-4.
20. **Choresca C, Gómez D, Shing S, Kim J, Han J, Jun J, Park S. 2011.** Molecular detection of *Edwardsiella tarda* with *gyrB* gene isolated from pirarucu, *Arapaima gigas* which is exhibited in an indoor private commercial aquarium. African J. of Biotech.10 (5):848-850.
21. **Chuquipiondo. 2014.** Profilaxis y sanidad en peces ornamentales. 23 [Internet], [10 octubre 2015]. Disponible en: [http://www.promamazonia.org.pe/wfr\\_Descarga.asp](http://www.promamazonia.org.pe/wfr_Descarga.asp).
22. **Conroy G. 2009.** Principales enfermedades bacterianas y parasitarias en tilapia. Perú [Internet], [3 agosto 2015]. disponible en: <http://es.slideshare.net/guestbf1ae6/enfermedades-tilapias>
23. **Corral L, Grizel H, Polanco E. 2000.** La acuicultura: Biología, regulación, fomento, nuevas tendencias y estrategia comercial. Tomo I. Análisis del desarrollo de los cultivos: Medio, agua y especies. Fundación Alfonso Martín Escudero .España: Mundi - Prensa.
24. **Cowey C, Roberts R.1981.** Patología de la nutrición de los teleósteos. En: Roberts R, eds. Patología de los peces. Madrid: Mundi -Prensa. p 249-261.
25. **Dai W, Du H, Fu L, Jin C, Xu Z, Liu H. 2009.** Effects of dietary Pb on accumulation, histopathology, and digestive enzyme activities in the digestive system of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Biological Trace Element Research v2:124-131.
26. **Dalmo R, Ingebrigtsen K, Bogwald J. 1997.** Non-specific defenses mechanisms in fish, with particular reference to reticuloendothelial system (RES). Fish Dis. 20: 241-273.

27. **Decostere A, Haesebrouck F, Deuriese L. 1998.** Characterization of four *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*) strains isolated from tropical fish. *Vet. Microbiol.* 62 (1): 35-45.
  
28. **Domitrovic HA. 1998.** Histopatología branquial en *Aequidens portalegrensis*. *Revista de Ictiología* 6 (1/12) :43-55.
  
29. **Dyková I, Lom J. 2006.** Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitológica.* 53: 1-36.
  
30. **Eiras J, Malta J, Varella A, Pavanelli G. 2005.** *Myxobolus insignis* sp.n. (Myxozoa, Myxosporidia, Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost fish *Semaprochilodus insignis* (Osteichthyes, Prochilodontidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro.* 100 (3): 245-247.
  
31. **El Acuarista. 2012.** Chile: Efecto del pH sobre el organismo. [Internet], [20 agosto 2015]. Disponible en: <http://www.elacuarista.com/secciones/pH.htm>.
  
32. **El Comercio. 2014.** Lima: Envíos de peces ornamentales a EE.UU facturaron US\$ 496 mil. [Internet],[25 junio 2015].Disponible en: <http://elcomercio.pe/economia/peru/envios-peces-ornamentales-eeuu-facturaron-us496-mil-noticia-1754313>
  
33. **Ellerby D, Altringham J, Williams T, Block B. 2000.** Slow muscle function of Pacific bonito (*Sarda chiliensis*) during steady swimming. *Journal of Experimental Biology*, 203 (13), 2001- 2013.
  
34. **Elliot D. 2000.** Integumentary System. In: G. Ostrander. *The Laboratory Fish.* Academic, Washington DC, USA. p. 271-300
  
35. **Ellis, A. (1981).** Inmunología de los teleósteos. En: RJ Roberts (ed.): *Patología de los peces.* Madrid, Editorial Mundi-Prensa. p. 103-117.

- 36. Evans DH, Piermarini PM, Choe KP. (2005).** The multifunctional fish gill: dominant site of gas Exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*, 85 (1), 97-177.
- 37. Evans DH, Piermarini PM, Potts WT. (1999).** Ionic transport in the fish gill epithelium. *Journal of Experimental Zoology*, 287 (7), 641-652.
- 38. Ewart KV, Williams J, Richards RC, Gallant JW, Melville K, Douglas SE. 2008.** The early response of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) macrophages exposed in vitro to *Aeromonas salmonicida* cultured in broth and in fish. *Dev Comp Immunol*. 32: 380-390.
- 39. [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1987.** Manual de diagnóstico en Ictiopatología con especial referencia a los salmónidos. Brasil. Informe técnico. 56 pp.
- 40. [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2008.** La pesca continental en América Latina: su contribución económica y social e instrumentos normativos asociados. Italia. Informe técnico. 38 pp.
- 41. [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2010.** Visión general del sector pesquero nacional. Perú. Informe técnico. 24 pp.
- 42. Fathy M, Walid A, Sayed A. 2013.** Histopathological changes in the kidney of mosquito fish, *Gambusia affinis* and guppy, *Poecelia reticulata* exposed to bisphenol A. *J. AAquat. Biol. & Fish*. Vol. 17, N°4: 83-93.
- 43. Feist S, Longshaw M. 2000.** Myxosporidiosis of fish and the bryozoan link with proliferative kidney disease (PKD) of salmonids. *Fish veterinary Journal* 5: 37-46.
- 44. Ferguson HW. 2006.** Systemic Pathology of Fish. 2ª ed. Londres: Scotian Press. 366 p.

45. **Fernández A, De Blas I, Ruiz I. 2002.** El sistema inmune de los teleósteos (I): Células y órganos. Revista AquaTIC n°16. [Internet], [10 Agosto 2015]. disponible en: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?c=146>
  
46. **Fosså S. 2004.** Man-made fish: Domesticated fishes and their place in the aquatic trade and hobby.OFI J.44:1-22 [Internet], [25 junio 2015].Disponible en : <http://www.ornamental-fish-int.org/files/Man-made.pdf>
  
47. **Francis R. 2003.** Dissolved oxygen for fish production. Florida: University of Florida IFAS Extension. Serie de documentos.[Internet], [23 setiembre 2013]. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FA/FA00200.pdf>
  
48. **Frerichs 1993.** Bacterial diseases of fish. 1ª ed. Oxford: Blackwell Science. 303 p.
  
49. **Gallo R. 1999.** Situación del manejo de las pesquerías de grandes bagres migratorios amazónicos en el Perú. En: VIII reunión COPESCAL. Brasil: Comisión de Pesca Continental para América Continental.
  
50. **Garvía A. 2009.** Tetra vermelha. Rio de Janeiro. Portal Amor de Peixe. [Internet], [26 junio 2015]. Disponible:<http://www.forumamordepeixe.com.br/download/Tetravermelho.pdf>
  
51. **Grazzle J. 1976.** Anatomy and Histology of the Channel Catfish. Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama, USA. 94 p.
  
52. **Gueiros B. 2007.** Enfermidades do peixes. Trabalho monográfico do curso de pós-graduação para a obtenção de título de Especialista em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal. Rio de Janeiro: Universidade Castelo Branco. 39 p.
  
53. **Gil F, Ayala M, López O. 2014.** Estómago, hígado, intestino, bazo y páncreas de los peces. Anatomía Veterinaria, Universidad de Murcia. [Internet], [15 Setiembre 2015]. disponible en: <http://www.um.es/anatvet/Documentos/Curso-Peces/pdfs/Estomago%20higado%20intestino%20bazo%20pancreas%20de%20los%20peces.pdf>

54. **Gonzales J, Heredia B. 1998.** Cultivo de la cachama (*Colossoma macropomum*). Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado Guárico. Maracay, Venezuela. p134.
55. **Guillaume J, Kauskik S, Bergol P, Metailler R. 2004.** Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. Madrid: Mundi prensa. 475p.
56. **Haloi K, Kalita M, Nath R. 2013.** The study on the histopathological changes of stomach of *Channa punctatus* (Block) by used pesticida endosulfan. *Global Journal of Sciencie* v13: 1-7.
57. **Heppell J, Davis HL. 2000.** Application of DNA vaccine technology to aquaculture. *Adv Drug Deliv. Rev.* 43, 29-43
58. **Hernández E, Figueroa J, Iregui C. 2008.** Streptococcosis on a red tilapia (*Oreochromis* spp.) fish-farm: Case study. 32: 247-252.
59. **Hibiya T, Yokote M, Oguri M, Sato H, Takashima F, Aida K. 1982.** An atlas of fish histology. Normal and pathological features. Gustav Fischer Verlag. (1), 5-15.
60. **Hignette M. 2003.** L'aquariophilie et le commerce des poisons d'ornement. *Bull. Soc.Zool. Fr.*129 (1-2): 67-74.
61. **Hine P. 1992.** The granulocytes of fish. *Fish Shellfish Immunol.* 2:79-88.
62. **Holt J, Krieg N, Sneath P, Staley J, Williams S. 2000.** Bergey's manual of determinative bacteriology. 9ª Ed. Philadelphia: Lippincott Williams y Wilkins. 799 p.
63. **Huang S, Chen W, Shei M, Liao I, Chen S. 1999** Studies on epizootiology and pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis* in tilapia (*Oreochromis* spp.) cultured in Taiwan. *Zoological Studies.* 38(2): 178-188.
64. **Huttenhuis H. 2005.** The ontogeny of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) immune system. Doctoral Degree Thesis. Wageningen University, department of Animal Sciences, Cell Biology and Immunology Group.

65. **[IIAP] Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. 2009.** Diagnóstico y marco estratégico para la gestión integrada de la cuenca del río Nanay-Loreto. Perú. Informe técnico. 109 pp.
66. **Instituto Tecnológico Pesquero del Perú – ITP - SANIPES. 2013.** Lima .Ministerio de la Producción.[Internet],[20 Agosto 2015].Disponible en: <http://www.itp.gob.pe/desarrollo-sanipes.php>
67. **Iregui A, Eslava P, Martínez E, Figueroa J. 1999.** Descripción de un caso de mixosporidiasis clínica en cachama blanca (*Piaractus brachipomus*). Dahlia. (Rev. Asoc. Colom. Ictiol). 3:17-29.
68. **Ismiño R, Araujo C.2002.** Efecto del amoníaco sobre el crecimiento de la gamitana *Colossoma Macropomum* (Cuvier, 1818).Folia Amazónica.13:1-2.
69. **Kallert D. 2006.** Life cycle studies and transmission mechanisms of myxozoan parasites. Doctoral Degree Thesis. The scientific faulties of the Friedrich-Alexander-Universitat Erlangen-Nürnberg.
70. **Kiessling A, Ruohonem K, Bjornervik M. 2006.** Muscle fibre growth anda quality in fish. Arch Tierz Dummerstorf, 49, 147-146.
71. **Klluge JP. 1965.** A granulomatous disease of fish produced by flavobacteria. Veterinary Pathology. 2: 545-552.
72. **Lango F, Castañeda M, Zamora J, Hernández G, Ramírez M, Solís E. 2012.** La acuariofilia de especies ornamentales marinas: un mercado de retos y oportunidades. Lat.Am.J.Aquat.Res 40. [Internet],[27 junio 2015]. disponible: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-560X2012000100002](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-560X2012000100002)
73. **Le Guellec D, Morvan-Dubois G, Sire J. 2004.** Skin development in bony fish with particular emphasis on collagen deposition in the dermis of the zebrafish (*Danio rerio*). International Journal of Development Biology, 48, 217-232.



74. **Livengood E, Chapman F. 2007.** The ornamental fish trade: An introduction with perspectives for responsible aquarium fish ownership. Florida: University of Florida. IFAS Extension. Serie de documentos FA 124 [Internet], [29 Junio 2015]. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FA/FA12400.pdf>
75. **López J, García O, Grima J, Ballesteros BJ, Pérez M. 2001.** Técnicas de biorrecuperación *in situ* en acuíferos contaminados por metales pesados. Instituto Geológico y Minero de España. Oficina de Proyectos de Valencia.
76. **Lovell RT, Miyasaki T, Sabeguator S. 1984.** Requirement for a-Tocopherol by channel catfish fed diets low in polyunsaturated triglycerides. J. Nutr. 114: 894-901.
77. **Magi GE, Lopez S, Magariños GE, Lamas J, Toranzo AE, Romalde L. 2009.** Experimental *Pseudomonas anguillisepticum* infection in turbot *Psetta máxima*: a histopathological and immunohistochemical study. Eur J Histochem: 53(2): e9.
78. **Marcos Godoy Patología en Acuicultura. 2013.** Colombia. edema branquial: daño agudo no infeccioso. [Internet], [23 diciembre 2015]. Disponible en: [http://www.marcosgodoy.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=225:edema-branquial-dano-agudo-no-infeccioso&catid=194:telangiectasia&Itemid=435&lang=es](http://www.marcosgodoy.com/index.php?option=com_content&view=article&id=225:edema-branquial-dano-agudo-no-infeccioso&catid=194:telangiectasia&Itemid=435&lang=es)
79. **Martins M, Souza V, Moraes J, Moraes F, Costa A. 1999.** Comparative evaluation of the susceptibility of cultivated fishes to the natural infection with myxosporean parasites and tissue changes in the host. Rev. Brasil. Biol. 59(2):263-269.
80. **Meyer C, Ganter M, Korting W, Steinhagen D. 2002.** Effects of parasite induced nephritis on osmoregulation in the common carp *Cyprinus carpio*. Diseases of aquatic organisms, 50(2), 127-135.
81. **Miller - Morgan T. 2010.** A brief overview of the ornamental fish industry and hobby. En: Roberts H. ed. Fundamentals of ornamental fish. 1ª ed. Iowa: Wiley –Blackwell Publishing. p 25-26.

- 82. Mojetta A. 1995.** Enciclopedia de los peces de acuario de agua dulce. 1ª ed. Barcelona: De Vecchi. 62 p.
- 83. Mohamed E, Mohamed M. 2008.** Bacterial causes of skin ulcers affection in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) with especial referances to its control. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture. 1420 -1436.
- 84. Mohanty B, Sahoo P.2007.** Edwardsiellosis in fish: a brief review. J. Biosci. 32(7):1331-1344
- 85. Murai T, Andrew JW. 1974.** Interactions of dietary a-tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Nutr. 104: 1416-1431.
- 86. Negrete P, Romero J, Villegas G, Vásquez V. 2003.** Presencia de plásmido en pseudomonas aisladas en peces de ornato. Vet. Méx., 34 (3).
- 87. Noga J. 2000.** Fish Disease. Diagnosis and treatment.1ª ed. USA: Iowa State University Press. 497 p.
- 88. Noga J. 2010.** Fish Disease. Diagnosis and treatment.2<sup>nd</sup> ed. USA: Iowa State University Press. 519 p.
- 89. Nowak BF, Deavin JG, Sarjito , Munday BL. 1992.** Scanning electron microscopy in aquatic toxicology. J. Computer-Assisted Microsc. 4: 241-246.
- 90. Noya M, Lamas J. 1996.** Responde of eosinophilic granule cells of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Teleostei) to bacteria and bacterial products. Cell Tissue Res. 287 (1): 223-230.
- 91. Orvay F. 1993.** Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción (Vol. 4). Edicions Universitat Barcelona.

92. **Ottensen O, Olafsen J. 1997.** Ontogenetic development and composition of the mucous cells and the occurrence of succular cells in the epidermis of Atlantic halibut. *J. Fish Biol*, 50, 620-633.
  
93. **Palacios S. 2014.** Estudio microbiológico y patológico en neón tetra (*Paracheirodon innesi*) procedente de la Amazonia Peruana. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 102 p.
  
94. **Palic D, Ostoji J, Andreassen C, Roth J. 2007.** Fish Cast NETs: Neutrophil extracellular traps are released from fish neutrophils. *Dev Comp Immunol*. 31: 805-816.
  
95. **Panné S, Luchini L. 2008.** Panorama actual de comercio internacional de peces ornamentales. Buenos Aires. Portal del Ministerio de Agricultura. [Internet], [29 Junio 2015]. Disponible en: [http://www.minagri.gob.ar/site/pesca/acuicultura/06\\_Publicaciones/\\_archivos/08110\\_Panorama%20actual%20de%20comercio%20internacional%20de%20Peces%20Ornamentales.pdf?PHPSESSID=843012057c8c6ddb0842c406ff0c76a2](http://www.minagri.gob.ar/site/pesca/acuicultura/06_Publicaciones/_archivos/08110_Panorama%20actual%20de%20comercio%20internacional%20de%20Peces%20Ornamentales.pdf?PHPSESSID=843012057c8c6ddb0842c406ff0c76a2)
  
96. **Parisot TJ. 1958.** *Tuberculosis of fish; a review of the literature with a description of the disease in salmonoid fish.* *Bacteriol Rev*. 22: 240-245.
  
97. **Petrovicky I. 1990.** La gran enciclopedia de los peces de acuario. 1ª ed. Madrid.: Susaeta. 500 p.
  
98. **Plumb J. 1999.** *Edwardsiella* septicaemias. En: Woo PTK y Bruno DW, eds. *Fish diseases and disorders. Volumen 3: Viral, bacterial and fungal infections.* Oxfordshire: CAB International. 479-493.
  
99. **Ploeg A. 2007.** Import and Export Legislation .Ornamental Fish International.[Internet], [30 Agosto 2015]. Disponible en: <http://www.ornamental-fish-int.org/files/files/legislation.pdf>
  
100. **Portal Comercio Internacional. 2013.** Bogotá: Legiscomex. [Internet], [25 junio 2015]. Disponible en

<http://www.legiscomex.com/BancoMedios/Documentos%20PDF/estudio%20peces%20ornamentales%20completo3.pdf>

- 101. Pulido E, Irqgui C, Figueroa J, Klesius P. 2004.** Estreptococosis en tilapias (*Oreochromis ssp.*) cultivadas en Colombia. Revista AquaTIC. 20: 97-106.
- 102. Rajeskhumar S, Munuswamy N. 2011.** Impact of metal on histopathology and expression of HSP 70 in different tissues of Milk fish (*Chamoschanos*) of Kaattuppalli Island, South East Coast, India. Chemosphere 83: 415-421.
- 103. Ramirez W, Rondon I, Vidal H, Eslava P. 2009.** Toxicidad agua y lesiones histopatológicas en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) expuestas a la mezcla de herbicida roundoup más surfactante cosmoflux 411F. Revista MVZ Córdoba 14. [Internet], [20 de diciembre del 2015]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-02682009000100005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682009000100005)
- 104. Reimschuessel R, May E, Bennett R, Lypsky M. 1988.** Necropsy examination of fish. Vet. Clin. North Am.: Small Animal Practice. 18: 427-433.
- 105. Reimschuessel R, May E, Bennett R, Lypsky M. 1992.** A Classification system for histological lesions. Journal of Aquatic Animal Health. 4:135:143.
- 106. Reimshuessel R. 2001.** A fish model of renal regeneration and development. ILARL. Journal 42(4): 285-291.
- 107. Rescan P, Collet B, Ralliere C, Cauty C, Delalande J, Goldspink G, Fauconneau B. 2001.** Red and White muscle development in the trout (*Oncorhynchus mykiss*) as shown by in situ hybridisation of fast and slow myosin heavy chain transcripts. Journal of Experimental Biology, 204 (12), 2097-2101.
- 108. Reyna S. 1993.** Patología celular y tisular. En: Trigo F, Poumián A, eds. Patología general veterinaria. México: Nueva Editorial Interamericana. p 26-30.

- 109. Revenga JE, Perfumo CJ, Ubeda CA, Semenas LG. 1995.** Difilobotriasis en salmónidos introducidos en el parque y reserva nacional Nahuel Huapi, Argentina: patología de las lesiones producidas por *Diphyllbothrium* spp. Med. Vet. Univer. Austral de Chile. 27. N 2: 115-122.
- 110. Rhodes MW, Kator H, Kotoh S, Berkum PV, Kaatari I, Vogelbien W, Floyd MM, Butler WR, Quinn FD, Ottinger FD, Ottinger C, Shotts E. 2001.** A unique Mycobacterium species isolated from an epizootic of striped bass (*Morone saxatilis*). Emerging infectious diseases. 7: 896- 899.
- 111. Ribeiro F, Lima M, Fernandes C. 2010.** Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA – Mossoró). Departamento de Ciências animais. Universidade Estadual Paulista (UNESP - Jaboticabal). Centro de Aqüicultura [Internet],[29 Junio 2015].Disponible en: [http://ablimno.org.br/boletins/pdf/bol\\_38%282-3%29.pdf](http://ablimno.org.br/boletins/pdf/bol_38%282-3%29.pdf)
- 112. Roberts J, Shepherd J. 1980.** Enfermedades de la trucha y el salmón .ed. España: Acribia .p 17-18.
- 113. Roberts R. 2001.** Fish Patology. 3ª ed. Edinburgh: WB Saunders. 472 p.
- 114. Rocha E, Monteiro R, Pereira C. 1994.** The liver of the brown trout, *Salmo trutta fario*: a light and electron microscope study. Journal of anatomy, 185(Pt 2), 241.
- 115. Ross L, Ross B. 2008.** Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals. 3ª ed. Editorial Blackwell Publishing .222p
- 116. Rosenthal S. 2007.** Frecuencia de lipidosis hepática en truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de fase juvenil en una piscigranja de la sierra central del Perú. Tesis de Médico veterinario .Lima: Univ.Nac.Mayor de san Marcos. 69 p.
- 117. Ruíz, G. 2005.** Estudio de la cadena productiva de peces ornamentales provenientes de la región Loreto en el Perú. Proyecto BIODAMAZ. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP. Iquitos, Perú. 91 pp.

118. **Salcido M. 1998.** Enfermedades bacterianas en sistemas de producción de peces. Tesis de Químico Biólogo. Sonora: Universidad de Sonora. 116 p.
119. **Shotts E, Starliper C. 1999.** Flavobacterial diseases: Columnaris disease, Cold-water disease and bacterial gill disease. En: PTK Woo & DW Bruno. eds: Fish diseases and disorders, Volumen 3: Viral, bacterial and fungal infections. p 569- 576
120. **Silva AG. 2004.** Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores de análises de contaminação aquática. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina. Paraná.
121. **Srinivasa Rao, Yamada Y, Tan Y, Leung K. 2004.** Use of proteomics to identify novel virulence determinants that are required for *Edwardsiella tarda* pathogenesis. Infect. Immun. 71:1343-1351.
122. **Stephens J, Jones J, Hillier P. 2010.** Ornamental fish testing Project. Final Report Department of Agriculture. Fisheries and Forestry. Biosecurity. Australian Government. [Internet], [30 Agosto 2015]. Disponible en: [http://www.agriculture.gov.au/SiteCollectionDocuments/ba/memos/2009/2009\\_06b\\_WA\\_Fisheries\\_finfish\\_testing\\_report.pdf](http://www.agriculture.gov.au/SiteCollectionDocuments/ba/memos/2009/2009_06b_WA_Fisheries_finfish_testing_report.pdf)
123. **Su Hsien T, Quintanilla M. 2008.** Manual sobre reproducción y cultivo de Tilapia. Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA). El Salvador.
124. **Takashima F, Hibiya T. 1995.** An atlas of fish histology. Kodansha, Gustav Fischer-Verlag. Tokyo, Stuttgart.
125. **Tort L, Balasch J, Mackenzie S. 2003.** Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. Inmunología. 22 (3):277-286.
126. **Tovar M, Contreras L, Caldas M, Rodríguez D, Hurtado H. 2008.** Comparación histológica y morfométrica entre el ojo de *Eremophilus mutisii* (Trichomycteridae) y el de *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae). Acta biol. Colomb., Vol. 13 No. 2 [Internet], [15 de

Agosto del 2015]. disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/13864/1/1534-7220-1-PB.pdf>

**127. Tripathi N, Latimer K, Rakich P. 2003.** Columnaris disease in freshwater fish. Vetlearn.com 25(7) [Internet], [25 Noviembre 2013]. Disponible en: [http://cp.vetlearn.com/Media/PublicationsArticle/PV\\_25\\_07\\_528.pdf](http://cp.vetlearn.com/Media/PublicationsArticle/PV_25_07_528.pdf).

**128. Trust T, Bull L, Currie B, Buckley J. 1974.** Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal. of the Fisheries Research Board of Canada. 36, 1174-1179.

**129. Universidad Autónoma de Barcelona. 2014.** Contaminación del Amazonas. [Internet], [12 diciembre 2015]. disponible en: <http://www.uab.cat/web/sala-de-prensa/detalle-noticia/el-petroleo-ha-contaminado-el-amazonas-del-peru-durante-los-ultimos-30-anos-1345667994339.html?noticiaid=1345672510909>

**130. Vandepitte J, Lemmens P, De Swet L. 1983.** Human edwardsiellosis traced to ornamental fish. Amer. of Clin. Microbiol. 17:165-167.

**131. Vásquez R. 2004.** Lesiones causadas por helmintos del aparato digestivo en peces estuarinos de la Laguna Tres Palos, Guerrero, México. Tesis de Médico Veterinario. Guerrero: Universidad Nacional Autónoma de México. 378 p.

**132. Verján N, Iregui C, Rey A, Eslava I. 2002.** Mycobacteriosis en peces ornamentales. Rev Med Vet. 49: 51-58.

**133. Verján N. 2002.** Sistematización y caracterización de las enfermedades de la Cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) en algunas regiones de los Llanos orientales y estudio de la Enfermedad Septicémica. Tesis de Maestría en Sanidad y Producción Animal. Univ. Nac. de Colombia.

134. **Vicentini C, Franceschini-Vicentini I, Bombonato M, Bertolucci B, Lima S, Santos A. 2005.** Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. *Int. J. Morphol*, 23 (3), 211-5.
135. **Vigliano F, Quiroga M, Nieto J. 2002.** Adaptaciones metabólicas y realimentación en peces. *Rev. ictiolo.* 10 (1/2):79-1068.
136. **Webb J. 2000.** Mechanosensory lateral line: Microscopic anatomy and development G. Ostrander. *The Laboratory Fish. Academic, Washington, USA.* 463-468.
137. **Wolf K, Markiw M. 1984.** Biology contravenes taxonomy in the Myxosoa: new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts. *Science.* 225:1449-1452.
138. **Wolf J, Wolfe M. 2005.** A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. *Toxicologic Pathology.* 33(1):75-85.
139. **[WWF] Worl Wildlife fund. 2005.** Aspectos socioeconómicos y de manejo sostenible del comercio internacional de peces ornamentales de agua dulce en el norte de Sudamérica: retos y perspectivas. Colombia. Memoria Taller Internacional. 74 pp.
140. **Yudi R, Nunes Z, Nunes A, Guerreiro D, Costas J. 2013.** Parasites of four ornamental fish from the Chumucuí River (Bragança, Pará, Brazil). *Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal*, v. 22, n.1, p.34-38.
141. **Zlotkin A, Chilmonczyk E, Eyngor M, Hurvitz A, Ghittino C, Eldar A. 2003.** Trojan Horse effect: Phagocyte-Mediated *Streptococcus iniae* infection of fish. *Infect Immun.* 71(5): 2318-2325.
142. **Zwollo P, Cole s, Bromage E, Kaattari S.2005.**B Cell heterogeneity in the teleost kidney: Evidence for a maturation gradient from anterior to posterior kidney.the *Journal of Immunology.*174:6608-6616.



## **IX. ANEXOS**

### **ANEXO 1. TINCIÓN GRAM**

Utilizada para determinar si la cepa bacteriana es gramnegativa o grampositiva. Esta tinción detecta una diferencia fundamental en la composición de la pared celular de las bacterias.

#### **A. Preparar un frotis de bacterias de un cultivo puro**

1. Poner una gota de solución salina, agua destilada, o PBS en una lámina portaobjetos de vidrio limpio.
2. Con la ayuda de un asa de siembra o una aguja estéril, tocar una colonia aislada y mezclar en la gota de agua.
3. Mezclar hasta que esté ligeramente turbia (el exceso bacteriano no permite una tinción correcta).
4. Dejar secar al aire y fijar al calor. No sobrecalentar, la lámina no debe estar demasiado caliente al tacto.
5. Dejar que se enfríe

B. Cubrir la lámina con cristal violeta, y dejar que permanezca en la lámina durante 60 segundos.

C. Lavar el cristal violeta con agua del grifo.

D. Cubrir la lámina con lugol, y dejar que permanezca en la lámina durante 60 segundos.

E. Lavar con agua corriente

F. Agregar alcohol al 95% y solución de acetona al 5% hasta que decolore la lámina (aproximadamente 5-10 segundos). Se debe evitar la decoloración excesiva ya que puede resultar en un falso gramnegativos en la lectura.

G. Enjuagar inmediatamente con agua corriente del grifo.

F. Cubrir la lámina con fucsina básica, durante 60 segundos.

H. Lavar con agua del grifo y dejar secar al aire.

#### Resultado

a. Gramnegativas son las células que se decoloran por la solución de alcohol- acetona y asumen una coloración que va de rosa a fucsia.

b. Grampositivas son aquellas células que retienen el cristal violeta y asumen una coloración que va de púrpura a azul oscuro.

## **ANEXO 2. PRUEBAS BIOQUÍMICAS**

### **A. PRESENCIA DE OXIDASA**

La prueba se basa en comprobar la existencia de proteínas citocromo c que forman parte de algunas cadenas transportadoras de electrones propias del metabolismo respirador. La presencia de citocromo c se manifiesta por la capacidad del colorante tetrametil-pfenilendiamina de oxidarse al ceder electrones al citocromo c, apareciendo una coloración azul (forma oxidada).

## **B. PRUEBA DE LA CATALASA**

En los ambientes acuosos, que contienen oxígeno disuelto, como el citoplasma de las células, aparecen formas tóxicas derivadas del oxígeno. Las bacterias que viven en ambientes aerobios necesitan un equipo enzimático capaz de neutralizar estas formas tóxicas. Entre estas enzimas se encuentra la catalasa, que convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular.

## **C. PRUEBA DEL INDOL**

Esta prueba se emplea para detectar la presencia de la enzima triptofanasa en las bacterias. Esta enzima degrada el aminoácido triptófano a indol, compuesto que se determina en el ensayo. Para realizar esta prueba, la bacteria se cultiva en un caldo de triptona con NaCl al % (medio especialmente rico en triptófano). Si la bacteria tiene la enzima triptofanasa, al añadir al medio el reactivo de Kovacks, este formará un complejo con el indol y se producirá un anillo de color rojo en la superficie del caldo y la prueba será considerada positiva.

## **D. PRUEBAS DEL ROJO DE METILO (RM) y VOGES –PROSKAUER (VP)**

Las bacterias que en anaerobiosis fermentan los azúcares pueden realizar esto por distintas rutas. Las enterobacterias son anaerobios facultativos que utilizarán la glucosa en dos fases: primero la metabolizarán aerobiamente, consumiendo rápidamente el oxígeno del medio, para, en segundo lugar, continuar metabolizándola por vía anaerobia (fermentación). Esta fermentación puede ser de dos tipos:

Fermentación ácido-mixta. Los productos finales son ácidos orgánicos (fórmico, acético, láctico y succinato). Fermentación característica de los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Yersinia*.

Fermentación butilén-glicólica. Los productos finales son compuestos neutros como el butanodiol y el etanol, produciéndose acetona como intermediario. Fermentación característica de los géneros *Enterobacter*, *Serratia* y la mayoría de especies *Erwinia*. La liberación de ácidos orgánicos en el primer tipo de fermentación (ácido-mixta) generará un

acusado descenso del pH que podrá ser detectado añadiendo al medio un indicador de pH como el rojo de metilo (rojo a pH de alrededor 4,0). Si la fermentación que se ha llevado a cabo es del tipo butilén glicólica, la producción de acetona puede ser detectada añadiendo al medio KOH y alfa-naftol (prueba Voges-Proskauer) que reaccionará con este compuesto produciendo un color rojo característico.

#### **E. AGAR TSI (Triple Sugar Iron o Triple Azúcar Hierro)**

Este medio determina la capacidad de las bacterias de fermentar hidratos de carbono y producir sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ). El medio contiene una parte de glucosa y 10 partes de lactosa y sacarosa. El indicador de pH es el rojo fenol y el sulfato ferroso pone en evidencia la formación de  $H_2S$ . Si el microorganismo solo fermenta glucosa, el fondo aparecerá de color amarillo y el pico de color rojo. Si el organismo fermenta glucosa, sacarosa y lactosa, el pico y el fondo aparecerán amarillos. Los organismos que no fermentan azúcares el fondo y el pico permanecen de color rojo. La producción de  $H_2S$  se manifiesta por un ennegrecimiento del medio, en cultivos de bacterias muy productoras de  $H_2S$  a veces se oscurece todo el medio, ocultando la reacción ácida de la parte inferior del tubo, pero si se ha formado  $H_2S$  es que existe una condición ácida en esa zona por lo que se considera el resultado de la producción de ácido a partir de la glucosa, como positivo. La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas.

#### **F. AGAR LIA**

En agar LIA se determina la capacidad de un microorganismo para atacar el aminoácido LISINA descarboxilándolo o desaminándolo, la fermentación de glucosa, la producción o no de gases ( $CO_2$ ), junto con la producción o no de ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ). Se lee un quebrado, la reacción ocurrida en la superficie del medio corresponde al numerador (parte aerobia) y la reacción ocurrida en la profundidad del medio corresponde al denominador (parte anaerobia). La acidez se denomina con la letra A (color amarillo) y la alcalinidad con la letra K (color púrpura). El indicador del PH del medio es PÚRPURA DE BROMOCRESOL, el cual en acidez viral color amarillo y en alcalinidad al color púrpura.

Por contener pequeña cantidad de glucosa (1g/ L) al ser fermentada al fondo del tubo es amarillo y la superficie alcalina.

Muchas bacterias poseen descarboxilasas que atacan el aminoácido lisina, con liberación de aminos de reacción alcalina y con producción de CO<sub>2</sub>. Para que actúen las descarboxilasas se requiere pH ácido que se obtiene por la fermentación de la glucosa que tiene el medio. La desaminación de la lisina es un proceso oxidativo que se manifiesta por la aparición de color rojo en el tendido, siendo el fondo del tubo amarillo por fermentación de la glucosa que posee el medio. Tiene como fuente de azufre el TIOSULFATO DE SODIO, necesario para las bacterias puedan producir H<sub>2</sub>S y como indicador H<sub>2</sub>S, CITRATO FERRICO DE AMONIO el cual reacciona con el H<sub>2</sub>S produciendo un precipitado negro e insoluble de sulfato ferroso. Para que se produzca H<sub>2</sub>S se requiere de un medio ácido por lo que dicha producción generalmente está limitada al fondo del medio, razón por la cual un fondo negro debe leerse como A (ácido), aunque el color amarillo usual esté tapado por color negro.

#### **G. AGAR CITRATO DE SIMMONS**

Este medio indica la capacidad de las bacterias de metabolizar el citrato. Contiene citrato como única fuente de carbono, fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno y azul de bromotimol como indicador de pH.

Únicamente las bacterias capaces de metabolizar el citrato (indica presencia de la enzima citrato permeasa) podrán multiplicarse en este medio y, al hacerlo, utilizarán los fosfatos presentes liberando iones amonio. Estos iones amonio que evolucionan a amoníaco, junto con la eliminación del citrato (ácido), generará una fuerte basificación del medio que se manifestará por un cambio de color del indicador de pH, de verde a azul.

#### **H. AGAR SIM**

En AGAR SIM se determina la capacidad de un microorganismo de moverse (presencia de flagelos), de producir INDOL y H<sub>2</sub>S. El INDOL es uno de los productos del metabolismo del aminoácido TRIPTOFANO. Las bacterias que poseen la enzima

TRIPTOFANASA son capaces de hidrolizar y desaminar el triptófano con producción de indol, ácido pirúvico y amoníaco. El indol se puede detectar en un medio adecuado observando el desarrollo de un color rojo después de agregar el reactivo de Erlich o de Kovacs indicando una prueba POSITIVA, debido a que el indol reacciona con el grupo aldehído del p-dimetilaminobenzaldehído. Si el color es amarillo indica una prueba NEGATIVA. EL SIM es un medio semisólido sin hidratos de carbono que inhiban la producción de H<sub>2</sub>S y tiene TIOSULFATO DE SODIO fuente de azufre y HIERRO PEPTONADO como indicador de H<sub>2</sub>S, lo que lo hace más sensible en la detección de H<sub>2</sub>S por producción de un precipitado negro de sulfuro ferroso. La MOVILIDAD BACTERIANA es otra característica importante en la identificación final de especie, se realiza en medios semisólidos como el SIM, debiéndose leer antes que la prueba de indol porque al agregar el reactivo de Erlich ésta se puede enmascarar. La prueba de motilidad se interpreta realizando un cuidadoso examen macroscópico del medio para observar una zona de desarrollo difuso que parte de la línea de inoculación.

## **H. PRUEBA DE HUGH Y LEIFSON**

Esta prueba se realiza para la determinación del metabolismo oxidativo o fermentativo de los carbohidratos. Para cada microorganismo a identificar, se inoculan por punción dos tubos de medio. En uno de los dos tubos se cubre la superficie con parafina estéril para crear condiciones de anaerobiosis. La producción de ácido se evidencia por el cambio de color de púrpura a amarillo. Los microorganismos fermentadores producen ácido en ambos tubos, los microorganismos oxidadores (respiradores) sólo lo producen en el tubo sin parafina.

### **ANEXO 3. PROTOCOLO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA HISTOPATOLOGÍA**

- A. Se produce la fijación con formol bufferado al 10%
- B. Se realiza la deshidratación, 2 veces en alcohol 80° por una hora, luego 2 veces en alcohol 90° por una hora y finalmente 2 veces en alcohol 100° por una hora
- C. Después se procede tres veces con el aclaramiento con xilol por una hora.
- D. Continúa la infiltración con parafina por una hora, esta técnica se realiza dos veces.
- E. Luego se realiza la inclusión en parafina haciendo bloques.
- F. Se continúa con el seccionamiento, para ello se realiza el corte de los bloques de parafina consiguiendo así un de 3-5 micras.
- G. Finalmente se realiza la tinción según el protocolo de coloración.